

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА В СОСТАВЕ ОРИГИНАЛЬНОЙ ДЕРМАЛЬНОЙ ПЛЕНКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Осиков М.В., **Симонян Е.В.**, Агеева А.А., Никушкина К.В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
РФ, г. Челябинск, Россия

**Резюме.** Изменения адаптивного иммунитета термической травме (ТТ) увеличивают риск инфекционных осложнений и ограничивают репарацию в очаге повреждения, поэтому поиск и доклиническая апробация эффективных и безопасных средств для локального применения при ТТ, содержащих биорегуляторы, является актуальной задачей современной медицины. Дermalные пленки (ДП) – инновационный и востребованный при ожогах малой площади вариант раневых покрытий, а плейотропные свойства (МТ) позволяют предположить его эффективность при ТТ. Цель работы – исследовать влияние МТ в составе оригинальной ДП на показатели адаптивного иммунитета при экспериментальной ТТ. Эксперимент выполнен на 115 крысах-самцах линии Wistar, ТТ IIIA степени и площадью 3,5% моделировали контактом с кипящей водой в течение 12 с. ДП площадью 12 см<sup>2</sup> на основе натрия карбоксиметилцеллюлозы с МТ (5 мг/г) применяли ежедневно в течение 5 суток. В контрольной группе применяли ДП-матрицу аналогичного состава без МТ. Оценивали на проточном цитофлуориметре количество в крови CD3<sup>+</sup> и CD45RA<sup>+</sup>, количество лимфоцитов с ранними признаками апоптоза, с поздними признаками апоптоза и частично некротические, на иммуноферментном анализаторе с использованием тест-систем для крыс – концентрацию в сыворотке IgG, IgM. При ТТ снижается в крови количество CD3<sup>+</sup> на 5-е и 10-е сутки, CD45RA<sup>+</sup> – на 5-е, 10-е и 20-е сутки, концентрация в сыворотке IgG – на 5-е и 10-е сутки наблюдения. На 5-е и 10-е сутки ТТ установлена связь между CD3<sup>+</sup> и количеством лимфоцитов с признаками раннего апоптоза (R = -0,47; p < 0,05; R = -0,51; p < 0,05 соответственно) и признаками позднего апоптоза и некроза (R = -0,64; p < 0,05; R = -0,42; p < 0,05 соответственно), между CD45RA<sup>+</sup> и количеством лимфоцитов с признаками раннего апоптоза (R = -0,47; p < 0,05; R = -0,49; p < 0,05 соответственно) и признаками позднего апоптоза и некроза (R = -0,57; p < 0,05; R = -0,49; p < 0,05 соответственно). Применение МТ в составе ДП приводит к увеличению в крови CD3<sup>+</sup> на 5-е и 20-е сутки, CD45RA<sup>+</sup> – на 5-е сутки, повышению в сыворотке концентрации IgG на 5-е и 10-е сутки ТТ. Одним из механизмов иммунотропного действия МТ выступает ограничение гибели лимфоцитов крови путем некроза и апоптоза, возможно, за счет его локального антиоксидантного и противовоспалительного действия в очаге ТТ.

*Ключевые слова:* мелатонин, дермальная пленка, термическая травма, лимфоциты, иммуноглобулин M, иммуноглобулин G

### Адрес для переписки:

Осиков Михаил Владимирович  
ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный  
медицинский университет» Министерства  
здравоохранения РФ  
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.  
Тел.: 8 (919) 122-37-99.  
E-mail: prof.osikov@yandex.ru

### Address for correspondence:

Osikov Mikhail V.  
South Ural State Medical University  
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64.  
Phone: 7 (919) 122-37-99.  
E-mail: prof.osikov@yandex.ru

### Образец цитирования:

М.В. Осиков, **Е.В. Симонян**, А.А. Агеева,  
К.В. Никушкина «Влияние мелатонина в составе  
оригинальной дермальной пленки на показатели  
адаптивного иммунитета при экспериментальной  
термической травме» // Российский иммунологический  
журнал, 2021. Т. 24, № 2. С. 181-188.  
doi: 10.46235/1028-7221-997-EOM

© Осиков М.В. и соавт., 2021

### For citation:

M.V. Osikov, **E.V. Simonyan**, A.A. Ageeva, K.V. Nikushkina  
“Effect of melatonin include into original dermal film upon  
adaptive immunity in experimental thermal trauma”, Russian  
Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii  
Zhurnal, 2021, Vol. 24, no. 2, pp. 181-188.  
doi: 10.46235/1028-7221-997-EOM  
DOI: 10.46235/1028-7221-997-EOM

# EFFECT OF MELATONIN INCLUDE INTO ORIGINAL DERMAL FILM UPON ADAPTIVE IMMUNITY IN EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Osikov M.V., **Simonyan E.V.**, Ageeva A.A., Nikushkina K.V.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Abstract.** Adaptive immunity changes in thermal trauma (TT) increase the risk of infectious complications and limit repair of the lesion. Hence, search and preclinical testing of effective and safe means to locally manage TT, containing bioregulators, is an urgent task of modern medicine. Dermal films (DF) are an innovative and popular variant of wound coatings for small-area burns, and pleiotropic properties of melatonin (MT) suggest its effectiveness in TT. The aim of the work is to investigate the effect of MT, as a component of original DF, upon the indexes of adaptive immunity in experimental TT. The experiment was performed on 115 male Wistar rats. Grade IIIA TT with area of 3.5% were produced by contact with boiling water for 12 s. DF with an area of 12 cm<sup>2</sup> based on sodium carboxymethylcellulose containing MT (5 mg/g) was applied daily for 5 days. Similar DF matrix, but without MT, was used in the control group. Amounts of CD3<sup>+</sup> and CD45RA<sup>+</sup> cells in blood, and lymphocyte subpopulations with early and late signs of apoptosis and partially necrotic cells were evaluated with flow cytofluorometer, as well as IgG and IgM concentrations were measured in blood serum using rat test systems. With TT, the amount of CD3<sup>+</sup> in the blood decreases on days +5 and +10, CD45RA<sup>+</sup>, on days +5, +10 and +20, and the concentration of IgG in the serum, on days +5 and +10 of observation. On days +5 and +10 after TT, a relationship was established between CD3<sup>+</sup> and the number of lymphocytes with signs of early apoptosis ( $R = -0.47$ ;  $p < 0.05$ ;  $R = -0.51$ ;  $p < 0.05$ , respectively), and signs of late apoptosis and necrosis ( $R = -0.64$ ;  $p < 0.05$ ;  $R = -0.42$ ;  $p < 0.05$ , respectively), between CD45RA<sup>+</sup> and the number of lymphocytes with signs of early apoptosis ( $R = -0.47$ ;  $p < 0.05$ ;  $R = -0.49$ ;  $p < 0.05$ , respectively), and signs of late apoptosis and necrosis ( $R = -0.57$ ;  $p < 0.05$ ;  $R = -0.49$ ;  $p < 0.05$ , respectively). Usage of MT in DF composition leads to increase in blood CD3<sup>+</sup> on the 5<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> days, CD45RA<sup>+</sup>, on the 5<sup>th</sup> day, and an increase in serum IgG concentration was observed on the 5<sup>th</sup> and 10<sup>th</sup> days following TT. Restriction of necrotic and apoptotic death of blood lymphocyte may be among the mechanisms of the immunotropic effect produced by MT which is, probably, due to its local antioxidant and anti-inflammatory action in the TT area.

*Keywords:* melatonin, dermal film, thermal injury, lymphocytes, immunoglobulin M, immunoglobulin G

## Введение

В Российской Федерации в 2018 году было зарегистрировано 251 480 случаев ожогов, данное значение остается стабильно высоким на протяжении более 5 лет [1]. Несмотря на значительные достижения в лечении ожогов, применение пересадки кожи, стволовых клеток и др. методов медленного заживления, присоединение инфекции и образование рубцов, в том числе патологических, составляют ключевые проблемы в комбустиологии, приводящие к удлинению сроков госпитализации, пожизненным физическим дефектам, снижению качества жизни и эмоциональным расстройствам [25].

Иммунные реакции занимают ключевую позицию в патогенезе термической травмы (ТТ) на всех ее этапах. Особое значение имеет возникновение инфекционных осложнений из-за нарушений барьерной функции кожи, а также дисфункции компонентов иммунной системы. Так, лимфоцитопения, в том числе CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>

и CD8<sup>+</sup>, регистрируемая через 48 ч и сохраняющаяся до 4 недель после ТТ, сопряжена с риском инфекционных осложнений и летальностью [17]. Необходимо учитывать долгосрочные последствия иммунной дисфункции после ТТ: первоначальная активация Th1-зависимого ответа с высвобождением провоспалительных цитокинов сменяется Th2-зависимыми реакциями с устойчивым повышением IL-10, которое сохраняется в течение 3 и более лет и приводит к подавлению Th1-зависимого ответа, активности макрофагов и пролиферации Т-клеток, снижению ответа на инфекционные патогены, что обозначается как иммуносупрессивный постожоговый фенотип [8].

Несмотря на разнообразие перевязочных средств, остается актуальным вопрос разработки лекарственных средств для локальной терапии ТТ. Ранее не выпускались лекарственные средства в виде дермальных пленок (ДП) для лечения ТТ. Профилактика и лечение инфекционных осложнений является первоочередной задачей

при ТТ, решаемой системным и локальным применением различных лекарственных препаратов [15]. Системная и локальная иммуномодуляция при ТТ включает широкий спектр средств, среди которых особый интерес вызывают эндогенные биорегуляторы [1, 2, 5]. Ранее нами продемонстрировано успешное локальное применение эпидермального фактора роста и эритропоэтина при экспериментальной ТТ, а также иммуотропный эффект МТ при десинхронозе [3, 4, 6]. Потенциальный, но вполне обоснованный с теоретических позиций интерес при обсуждении перспективных терапевтических агентов при ТТ связан с мелатонином (МТ). Кожа млекопитающих обладает собственной мелатонинергической системой, участвующей в поддержании гомеостаза и целостности в связи с синтезом МТ и наличием специфических рецепторов [21]. Рецептор МТ1 обнаружен в кератиноцитах и фибробластах кожи, клетках волосяного фолликула, рецептор МТ-2 – преимущественно в эккринных железах и кровеносных сосудах кожи, меланоцитах [19]. Количество рецепторов МТ1 в фибробластах кожи уменьшается с возрастом [11]. Рецептор ROR идентифицирован в кератиноцитах эпидермиса, фибробластах, меланоцитах [10]. Полагают, что при заболеваниях кожи эффективность системного перорального применения МТ ограничена за счет низкой биодоступности, разрушения в печени, ограничения очага повреждения от системного кровотока и предпочтение должно отдаваться парентеральному способу введения МТ или его локальным формам [19]. **Цель работы** – исследовать влияние МТ в составе оригинальной ДП на показатели адаптивного иммунитета при экспериментальной ТТ.

## Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 115 крысах-самцах линии Wistar массой 200–240 г в экспериментально-биологической клинике ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России при соблюдении требований по уходу и содержанию животных, а также выводу их из эксперимента с последующей утилизацией (протокол № 10 от 15.11.2019 г. заключения этического комитета ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России). Животные случайным образом разделены на 3 группы: группа 1 (n = 12) – интактный контроль; группа 2 (n = 34) – животные с ТТ и наложением асептической повязки (ТТ + АсП); группа 3 (n = 34) – животные с ТТ в условиях применения ДП-матрицы; группа 4 (n = 35) – животные с ТТ в условиях применения ДП с МТ (ТТ + ДП МТ). Для моделирования ТТ IIIA степени и относительной площадью 3,5% межлопаточный участок кожи погружали в очищенную воду при 98–99 °С на 12 с. Глубину ожога верифицировали

морфологическими методами. Модель ТТ с использованием горячей воды является наиболее частой и рассматривается исследователями как стандарт ТТ. Для анестезии использовали препарат «Золетил 100» (МНН: тилетамин, золазепам, Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 20 мг/кг. Пленку с МТ площадью 12 см<sup>2</sup> в группе 3 наносили сразу после ТТ, закрепляя асептической повязкой, перевязку осуществляли ежедневно в течение 5 суток. В предварительных исследованиях разработан состав ДП на основе натрий карбоксиметилцеллюлозы (поли-1,4- -О-карбоксиметил-Д-пиранозил-Д-гликопираноза натрия), включен МТ в концентрации 5 мг/г, проведена ее оценка в соответствии с фармако-технологическими параметрами (заявка на патент № 2020118766). В группе 3 использовали ДП-матрицу, аналогичную по составу и свойствам в группе 4, но не содержащую МТ. Общее количество лимфоцитов в крови определяли на анализаторе ВС-2800 Vet (Mindray, Китай). Субпопуляционный спектр лимфоцитов после выделения из крови на градиенте фиколл-верографин определяли на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием специфических крысиных моноклональных антител eBioscience (США) с фенотипом CD3<sup>+</sup> и CD45RA<sup>+</sup>, которые являются у крыс маркерами преимущественно Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов соответственно [18]. Гибель лимфоцитов оценивали при окрашивании конъюгированным с флюорохромом аннексином V (Annexin-5-FITC) и 7-аминоактиномицином D (7-AAD) (Beckman Coulter, США). Дифференцировали интактные клетки (Annexin-5-FITC<sup>-</sup>/7-AAD<sup>-</sup>), с ранними признаками апоптоза (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>-</sup>), с поздними признаками апоптоза и частично некротические (Annexin-5-FITC<sup>+</sup>/7-AAD<sup>+</sup>). На иммуноферментном анализаторе Personal LAB (Италия) с использованием специфических тест-систем для крыс фирмы Cloud-Clone Corp. (Китай) определяли концентрацию в сыворотке иммуноглобулинов М (IgM) и G (IgG), результат выражали в г/л. Полученные данные обрабатывали с использованием IBM SPSS Statistics 19 (SPSS: IBM Company; США). Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>). Значимость различий между группами оценивали при помощи критериев Краскела–Уоллиса, Манна–Уитни, Вальда–Вольфовитца. Отличия считали статистически значимыми при p < 0,01. Для выявления связи между изучаемыми параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R).

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» по программе У.М.Н.И.К. (договор

№ 15583ГУ/2020 от 05.07.2020), РФФИ и Челябинской области (проект № 20-415-740016).

## Результаты и обсуждение

Изменения показателей адаптивного иммунитета при экспериментальной ТТ представлены в таблице 1. На 5-е сутки наблюдения в крови снижается количество CD3<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, отражающие у крыс представительство соответственно Т- и В-лимфоцитов. На этом фоне увеличивается количество в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза и признаками позднего апоптоза и некроза. Со стороны гуморального компонента адаптивного иммунитета выявлено снижение концентрации в сыворотке IgG, концентрация IgM не отличается от значений в контрольной группе интактных животных. На 10-е сутки ТТ в крови снижается количество CD3<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>,

количество лимфоцитов без признаков некроза и апоптоза, увеличивается количество в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, снижается концентрации в сыворотке IgG. На 20-е сутки наблюдения количество в крови CD3<sup>+</sup>, концентрация в сыворотке IgG, IgM не отличались от значений в группе интактных животных, статистически значимо снижалось количество CD45RA<sup>+</sup>, увеличивалось количество в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза и признаками позднего апоптоза и некроза.

Динамика изменений показателей адаптивного иммунитета при экспериментальной ТТ в условиях применения оригинальной ДП с МТ представлена в табл. 2. По сравнению с группой крыс с ТТ, у которых применяли ДП-матрицу, обнаружено на 5-е сутки увеличение количества в крови CD3<sup>+</sup> и CD45RA<sup>+</sup>, снижение количества в

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТТ, Ме (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

TABLE 1. INDICATORS OF ADAPTIVE IMMUNITY IN EXPERIMENTAL TT, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Показатели Indicators	Группа 1 Интактные Group 1 Intact (n = 12)	Группа 2 ТТ + АСП Group 2 TT + Aseptic Dressing		
		5-е сутки 5 days (n = 8)	10-е сутки 10 days (n = 15)	20-е сутки 20 days (n = 11)
CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /l	1,72 (1,22-2,17)	1,22 (0,79-1,40)*	1,06 (0,73-1,58)*	1,44 (0,89-1,94)
CD45RA <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л CD45RA <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /l	0,36 (0,30-0,46)	0,17 (0,09-0,27)*	0,17 (0,14-0,33)*	0,16 (0,12-0,21)*
Annexin-5- FITC-/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC-/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /l	2,71 (2,16-2,71)	1,57 (0,97-3,08)	1,41 (1,28-1,73)*	1,68 (1,08-2,96)
Annexin-5- FITC+/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC+/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /l	0,42 (0,31-0,53)	1,52 (0,93-2,84)*	0,79 (0,58-1,17)*	0,65 (0,27-1,08)*
Annexin-5- FITC+/ 7-AAD+, × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC+/ 7-AAD+, × 10 <sup>9</sup> /l	0,002 (0,001-0,012)	0,064 (0,035-0,119)*	0,006 (0,002-0,016)	0,007 (0,003-0,033)*
IgM, г/л IgM, g/l	0,29 (0,27-0,86)	0,32 (0,24-0,53)	0,33 (0,22-0,48)	0,38 (0,19-0,52)
IgG, г/л IgG, g/l	53,43 (44,21-53,58)	30,43 (25,42-38,68)*	30,53 (23,49-36,54)*	43,80 (32,95-65,45)

Примечание. \* – значимые (p < 0,01) различия с группой 1.

Note. \*, significant (p < 0.01) differences with group 1.

**ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА В СОСТАВЕ ДЕРМАЛЬНОЙ ПЛЕНКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТТ, Ме (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

**TABLE 2. EFFECT OF MELATONIN IN THE DERMAL FILM ON ADAPTIVE IMMUNITY IN EXPERIMENTAL TT, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

Показатели Indicators	Группа 1 Интактные Group 1 Intact (n = 12)	Группа 3 ТТ + ДП Group 3 TT + DF			Группа 4 ТТ + МТ ДП Group 3 TT + MT DF		
		5-е сутки 5 days (n = 8)	10-е сутки 10 days (n = 15)	20-е сутки 20 days (n = 11)	5-е сутки 5 days (n = 9)	10-е сутки 10 days (n = 10)	20-е сутки 20 days (n = 16)
CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л CD3 <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /l	1,72 (1,22-2,17)	1,18 (0,94-1,32)*	1,12 (0,83-1,34)*	1,50 (1,02-2,04)	1,46 (1,25-1,57)*#	1,69 (0,85-2,87)*#	1,62 (1,38-2,05)
CD45RA <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л CD45RA <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /l	0,36 (0,30-0,46)	0,21 (0,12-0,31)*	0,19 (0,14-0,29)*	0,20 (0,13-0,28)*	0,26 (0,26-0,29)*#	0,29 (0,23-0,34)*	0,21 (0,18-0,24)*
Annexin-5- FITC-/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC-/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /l	2,71 (2,16-2,71)	1,61 (1,07-2,58)	1,45 (1,21-1,84)*	1,85 (1,44-2,38)	2,53 (1,59-2,83)	2,82 (2,45-3,39)#	2,15 (1,25-2,58)
Annexin-5- FITC+/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC+/ 7-AAD-, × 10 <sup>9</sup> /l	0,42 (0,31-0,53)	1,48 (1,03-2,04)*	0,83 (0,55-1,27)*	0,68 (0,34-0,88)*	0,38 (0,30-0,70)#	0,46 (0,29-0,61)#	0,39 (0,32-0,56)#
Annexin-5- FITC+/ 7-AAD <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /л Annexin-5- FITC+/ 7-AAD <sup>+</sup> , × 10 <sup>9</sup> /l	0,002 (0,001- 0,012)	0,067 (0,041- 0,121)*	0,005 (0,003- 0,011)	0,006 (0,002- 0,013)*	0,007 (0,006- 0,146)*#	0,004 (0,002- 0,009)	0,005 (0,003- 0,010)
IgM, г/л IgM, g/l	0,29 (0,27-0,86)	0,34 (0,26-0,64)	0,29 (0,23-0,36)	0,33 (0,25-0,37)	0,34 (0,22-0,57)	0,34 (0,19-0,66)	0,27 (0,23-0,49)
IgG, г/л IgG, g/l	53,43 (44,21- 53,58)	36,12 (28,04- 45,92)*	30,53 (23,49- 36,54)*	46,20 (35,28- 63,12)	42,65 (28,81- 44,74)*#	44,69 (30,86- 58,51)#	43,98 (31,70- 53,72)

Примечание. \* – значимые (p < 0,01) различия с группой 1, # – значимые (p < 0,01) различия с группой 2.

Note. \*, significant (p < 0.01) differences with group 1; #, significant (p < 0.01) differences with group 2.

крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза и признаками позднего апоптоза и некроза, увеличение концентрации в сыворотке IgG. На 10-е сутки наблюдения в условиях применения МТ статистически значимо увеличивается в кро-

ви количество CD3<sup>+</sup>, количество лимфоцитов без признаков некроза и апоптоза, снижается количества в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, увеличивается концентрация в сыворотке IgG. На 20-е сутки ТТ эффект МТ

проявился только в снижении в крови количества лимфоцитов с признаками раннего апоптоза.

Иммуносупрессия по клеточному и гуморальному звеньям адаптивного иммунитета при ТТ описана в литературе и достаточно хорошо изучена. Полагают, что лимфоцитопения при ТТ обусловлена эффектами ТНФ-альфа, опосредованными белком TNF-2 и повышением активности каспазы-3, каспазы-8, каспазы-9, цитохрома с, снижением мембранного потенциала митохондрий, а блокада TNF-2 ограничивает апоптоз CD4<sup>+</sup> [9]. В большинстве случаев количество В-лимфоцитов, плазмочитов снижается и приводит к уменьшению уровня иммуноглобулинов в сыворотке, по другим данным количество CD19<sup>+</sup> увеличивается [12]. Определенный вклад в развитие гипоиммуноглобулинемии может вносить потеря плазменных белков через ожоговую поверхность. Кроме этого, ожоговая поверхность – источник мощной импульсации от ноцицепторов, приводящей к изменению нейрогенной, эндокринной, генетической регуляции активности иммунокомпетентных клеток, динамики раневого процесса, вероятности развития осложнений ТТ [16]. Нами с использованием корреляционного анализа на 5-е и 10-е сутки ТТ установлена обратная связь средней силы между количеством в крови CD3<sup>+</sup> и количеством в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза ( $R = -0,47$ ;  $p < 0,05$ ;  $R = -0,51$ ;  $p < 0,05$  соответственно) и признаками позднего апоптоза и некроза ( $R = -0,64$ ;  $p < 0,05$ ;  $R = -0,42$ ;  $p < 0,05$  соответственно), между количеством в крови CD45RA<sup>+</sup> и количеством в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза ( $R = -0,47$ ;  $p < 0,05$ ;  $R = -0,49$ ;  $p < 0,05$  соответственно) и признаками позднего апоптоза и некроза ( $R = -0,57$ ;  $p < 0,05$ ;  $R = -0,49$ ;  $p < 0,05$  соответственно).

Необходимо отметить, что лимфоцитопения при ТТ является фактором риска не только развития инфекционных осложнений, но и ухудшения репарации в очаге повреждения. Различные популяции лимфоцитов участвуют в репарации при ТТ:  $\gamma\delta$ T-клетки благодаря секреции IGF-1, а CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> – через регуляцию экспрессии различных факторов роста, Treg имеют значение в ограничении сосудисто-экссудативных реакций, активации ангиогенеза [24]. Роль iNKT клеток продемонстрирована у iNKT – дефицитных мышей, у которых в ране увеличивается нейтрофильная инфильтрация и площадь вторичной альтерации, задерживается заживление [23].

Полагаем, что зафиксированный нами иммунотропный эффект локального применения МТ при ТТ в виде увеличения количества в крови CD3<sup>+</sup> и CD45RA<sup>+</sup>, концентрации в сыворотке IgG является многофакторным. Во-первых, МТ ограничивает зону вторичной альтерации в очаге

ТТ за счет антиоксидантного действия, как следствие снижения продукции медиаторов воспаления, в том числе с проапоптогенным эффектом. Показано, что МТ и его метаболиты оказывают защитное действие на культивируемые меланоциты, кератиноциты, фибробласты кожи за счет регуляции редокс-статуса и биоэнергетического гомеостаза, ограничение окислительного стресса активации репарации ДНК, NRF2-зависимых путей без воздействия на мембранные рецепторы МТ [24]. МТ, действующий аутокринно и паракринно, синтезируемый в коже и поступающий из кровеносных сосудов, рассматривается как ключевой антиоксидант [19].

Во-вторых, описаны прямые противовоспалительные эффекты МТ. Так, после облучения кератиноцитов ультрафиолетом типа В, приводящего к активации NF- $\kappa$ B, МТ ингибирует экспрессию многих провоспалительных факторов: iNOS, ЦОГ-2, ТНФ-альфа [13]. Кроме этого, МТ ингибирует NLRP3-зависимый путь сигнализации, активируемый при окислительном повреждении митохондрий и связанный с экспрессией IL-1 и IL-18, проапоптогенных факторов [7]. Наконец, МТ оказывает непосредственный антиапоптогенный эффект, снижает экспрессию проапоптотических белков в кератиноцитах за счет снижения выхода цитохрома С из митохондрий, активации каспаз 9, 3 и 7. Данный эффект был продемонстрирован в кератиноцитах линии HaCaT с помощью TUNEL теста. Репарация ДНК в клетках кожи регулируется МТ как опосредованно за счет указанного выше антиоксидантного действия, так и прямо в связи с увеличением экспрессии p53 [14].

## Выводы

Таким образом, при экспериментальной ТТ изменения адаптивного иммунитета включают снижение в крови количества CD3<sup>+</sup> на 5-е и 10-е сутки, CD45RA<sup>+</sup> – на 5-е, 10-е и 20-е сутки, снижение концентрации в сыворотке IgG на 5-е и 10-е сутки наблюдения. Количество CD3<sup>+</sup> и CD45RA<sup>+</sup> в крови снижается по мере увеличения в крови лимфоцитов с признаками раннего апоптоза, позднего апоптоза и некроза. При экспериментальной ТТ локальное применение МТ в составе оригинальной ДП приводит к увеличению в крови CD3<sup>+</sup> на 5-е и 20-е сутки, CD45RA<sup>+</sup> – на 5-е сутки, повышению в сыворотке концентрации IgG на 5-е и 10-е сутки наблюдения. Одним из механизмов иммунотропного действия МТ выступает ограничение гибели лимфоцитов крови путем некроза и апоптоза, возможно, за счет его локального антиоксидантного и противовоспалительного действия в очаге ТТ.

## Список литературы / References

1. Осиков М.В. Влияние эритропоэтина на процессы свободнорадикального окисления и экспрессию гликопротеинов в тромбоцитах при хронической почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2014. Т. 157, № 1. С. 30-33. [Osikov M.V. The effect of erythropoietin on the processes of free radical oxidation and the expression of glycoproteins in platelets in chronic renal failure. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, Vol. 157, no. 1, pp. 30-33. (In Russ.)]
2. Осиков М.В. Роль орозомукоида в регуляции активности систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2009. Т. 148, № 7. С. 27-30. [Osikov M.V. The role of orosomucoid in the regulation of the activity of plasma proteolysis systems in experimental renal failure. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2009, Vol. 148, no. 7, pp. 27-30. (In Russ.)]
3. Осиков М.В., Гизингер О.А., Огнева О.И. Механизм влияния мелатонина на иммунный статус при экспериментальном десинхронозе в условиях светодиодного освещения // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 6. С. 517-524. [Osikov M.V., Gizinger O.A., Ogneva O.I. Mechanisms of melatonin effects upon immune state in experimental desynchronoses produced under the led illumination conditions. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 6, pp. 517-524. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-6-517-524.
4. Осиков М.В., Симонян Е.В., Саедгалина О.Т. Влияние эритропоэтина на содержание продуктов перекисного окисления липидов в лимфоцитах при экспериментальной термической травме // Казанский медицинский журнал, 2015. Т. 96, № 5. С. 849-853. [Osikov M.V., Simonyan E.V., Saedgalina O.T. Effect of Erythropoietin on the Content of Lipid Peroxidation Products in Lymphocytes in Experimental Thermal Injury. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal*, 2015, Vol. 96, no. 5, pp. 849-853. (In Russ.)]
5. Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Агеев Ю.И. Влияние эритропоэтина на апоптоз лимфоцитов при экспериментальной хронической почечной недостаточности // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2015. Т. 159, № 3. С. 326-328. [Osikov M.V., Telesheva L.F., Ageev Yu.I. Effect of erythropoietin on lymphocyte apoptosis in experimental chronic renal failure. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2015, Vol. 159, no. 3, pp. 326-328. (In Russ.)]
6. Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Лихачева А.Г. Влияние локального применения эпидермального фактора роста на врожденный иммунитет и клеточный состав очага повреждения при экспериментальной термической травме // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2014. Т. 157, № 3. С. 280-283. [Osikov M.V., Telesheva L.F., Likhacheva A.G. Effect of local application of epidermal growth factor on innate immunity and cellular composition of the lesion focus in experimental thermal trauma. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, Vol. 157, no. 3, pp. 280-283. (In Russ.)]
7. Acuña-Castroviejo D., Rahim I., Acuña-Fernández C., Fernández-Ortiz M., Solera-Marín J., Sayed R.K.A., Díaz-Casado M.E., Rusanova I., López L.C., Escames G. Melatonin, clock genes and mitochondria in sepsis. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2017, no. 74, pp. 3965-3987.
8. Barrett L.W., Fear V.S., Waithman J.C., Wood F.M., Fear M.W. Understanding acute burn injury as a chronic disease. *Burns Trauma*, 2019, Vol. 7, 23. doi: 10.1186/s41038-019-0163-2.
9. Bordoloi D., Banik K., Shabnam B., Padmavathi G., Monisha J., Arfuso F., Dharmarajan A., Mao X., Lim L.H.K., Wang L. TIPE family of proteins and its implications in different chronic diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 10, 2974. doi: 10.3390/ijms19102974.
10. Dai J., Choo M.K., Park J.M., Fisher D.E. Topical ROR inverse agonists suppress inflammation in mouse models of atopic dermatitis and acute irritant dermatitis. *J. Investig. Dermatol.*, 2017, Vol. 137, no. 12, pp. 2523-2531.
11. Dong K., Goyarts E., Rella A., Pelle E., Wong Y.H., Pernodet N. Age associated decrease of MT-1 Melatonin receptor in human dermal skin fibroblasts impairs protection against UV-induced DNA damage. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 1, E326. doi: 10.3390/ijms21010326.
12. Entezami K., Mosavi T. Determination of lymphocytes surface markers in patients with thermal burns and the influence of burn size on mononuclear cell subsets. *Med. J. Islam. Repub. Iran*, 2017, Vol. 31, 38. doi: 10.14196/mjiri.31.38.
13. Favero G., Franceschetti L., Bonomini F., et al. Melatonin as an anti-inflammatory agent modulating inflammasome activation. *Int. J. Endocrinol.*, 2017, Vol. 2017, 1835195. doi: 10.1155/2017/1835195.
14. Galano A., Tan D.X., Reiter R.J. Melatonin: a versatile protector against oxidative DNA damage. *Molecules*, 2018, Vol. 23, E530. doi: 10.3390/molecules23030530.
15. Norman G., Christie J., Liu Z., Westby M. J., Jefferies J. M., Hudson T., et al. Antiseptics for burns. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2017, no. 7, Cd011821. doi: 10.1002/14651858.cd011821.
16. Peterson N.C., Nunamaker E.A., Turner P.V. To treat or not to treat: the effects of pain on experimental parameters. *Comp. Med.*, 2017, Vol. 67, no. 6, pp. 469-482.
17. Rani M., Schwacha M.G. The composition of T-cell subsets are altered in the burn wound early after injury. *PLoS One*, 2017, Vol. 12, no. 6, e0179015. doi: 10.1371/journal.pone.0179015.

18. Ringheim G.E., Lee L., Laws-Ricker L., Delohery T. Teriflunomide attenuates immunopathological changes in the dark agouti rat model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Front. Neurol.*, 2013, Vol. 4, 169. doi: 10.3389/fneur.2013.00169.
19. Rusanova I., Martínez-Ruiz L., Florido J., Rodríguez-Santana C., Guerra-Librero A., Acuña-Castroviejo D., Escames G. Protective Effects of melatonin on the skin: future perspectives. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 19, E4948. doi: 10.3390/ijms20194948.
20. Skobowiat C., Brożyna A.A., Janjetovic Z., Jeayeng S., Oak A.S.W., Kim T.K., Panich U., Reiter R.J., Slominski A.T. Melatonin and its derivatives counteract the ultraviolet B radiation-induced damage in human and porcine skin *ex vivo*. *J. Pineal Res.*, 2018, Vol. 65, no. 2, e12501. doi: 10.1111/jpi.12501.
21. Slominski A.T., Kim T.K., Kleszczyński K., Semak I., Janjetovic Z., Sweatman T., Skobowiat C., Stekete J.D., Lin Z., Postlethwaite A., Li W., Reiter R.J., Tobin D.J. Characterization of serotonin and N-acetylserotonin systems in the human epidermis and skin cells. *J. Pineal Res.*, 2020, Vol. 68, no. 2, e12626. doi: 10.1111/jpi.12626.
22. Stone Ii R., Natesan S., Kowalczewski C.J., Mangum L.H., Clay N.E., Clohessy R.M., Carlsson A.H., Tassin D.H., Chan R.K., Rizzo J.A., Christy R.J. Advancements in regenerative strategies through the continuum of burn care. *Front. Pharmacol.*, 2018, Vol. 9, 672. doi: 10.3389/fphar.2018.00672.
23. Tanno H., Kawakami K., Kanno E., Suzuki A., Takagi N., Yamamoto H., Ishii K., Imai Y., Maruyama R., Tachi M.J.W.R., et al. Invariant NKT cells promote skin wound healing by preventing a prolonged neutrophilic inflammatory response. *Wound Repair Regener.*, 2017, Vol. 25, pp. 805-815.
24. Wang X., Balaji S., Steen E.H., Li H., Rae M.M., Blum A.J., Miao Q., Butte M.J., Bollyky P.L., Keswani S.G. T lymphocytes attenuate dermal scarring by regulating inflammation, neovascularization, and extracellular matrix remodeling. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*, 2019, Vol. 8, no. 11, pp. 527-537.
25. Wang Y., Beekman J., Hew J., Jackson S., Issler-Fisher A.C., Parungao R., Lajevardi S.S., Li Z., Maitz P.K.M. Burn injury: challenges and advances in burn wound healing, infection, pain and scarring. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2018, no. 123, pp. 3-17.

---

**Автор:**

**Осиков М.В.** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Симоныя Е.В.** — к.фарм.н., доцент, заведующий кафедрой фармации и химии фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Агеева А.А.** — ассистент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Никושкина К.В.** — к.м.н., ведущий научный сотрудник НИИ Иммунологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Челябинск, Россия

**Author:**

**Osikov M.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Simonyan E.V.**, PhD (Pharmacy), Associate Professor, Head, Department of Pharmacy and Chemistry at the Pharmaceutical Faculty, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Ageeva A.A.**, Assistant Professor, Department of Pathological Physiology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

**Nikushkina K.V.**, PhD (Medicine), Leading Research Associate, Research Institute of Immunology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

---

Поступила 17.05.2021  
Принята к печати 17.06.2021

Received 17.05.2021  
Accepted 17.06.2021