

© Коллектив авторов, 2020

Серебряная Н.Б.^{1,2}, Фомичева Е.Е.¹, Филатенкова Т.А.¹, Шанин С.Н.¹

Протективные возможности ИЛ-2 в условиях восстановления после черепно-мозговой травмы у животных разного возраста

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 197376, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 195067, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме

Введение. Старение существенно ухудшает показатели здоровья после черепно-мозговой травмы (ЧМТ), особенно у пожилых лиц.

Цель работы – изучить концентрацию BDNF (нейротрофный фактор мозга – brain-derived neurotrophic factor), иммунные и гормональные нарушения у молодых и старых крыс в период восстановления после ЧМТ при коррекции рекомбинантным интерлейкином (ИЛ)-2 (рИЛ-2).

Материал и методы. Работа выполнена на крысах-самцах породы Wistar в возрасте 3 (молодые) и 18 мес (старые). В качестве модели ЧМТ использовали модель «падающего груза». Для коррекции нарушений после ЧМТ животным вводили рИЛ-2 («Биотех», Российская Федерация) 3 инъекции в течение 3 дней в дозе 30 мкг/кг массы. Контрольным животным по той же схеме вводили 0,15 М NaCl. На 7-е и 14-е сутки после ЧМТ в крови животных методом ИФА определяли концентрации кортикостерона, тестостерона и BDNF, активность иммунных клеток определяли по их цитотоксичности и пролиферативной активности.

Результаты. У интактных и травмированных животных, как молодых, так и старых, после введения рИЛ-2 наблюдали увеличение концентраций кортикостерона и тестостерона по сравнению с животными, не получавшими рИЛ-2. Введение рИЛ-2 интактным молодым и старым животным не привело к достоверному изменению концентрации BDNF. ЧМТ приводила к достоверному снижению уровней BDNF у молодых и старых животных, но после введения рИЛ-2 уровни BDNF существенно повышались (в обеих группах $p < 0,05$). После ЧМТ пролиферативная активность спленоцитов молодых крыс существенно не снижалась, а у старых крыс угнетение пролиферативной активности спленоцитов было существенным (индекс стимуляции ниже единицы). Введение рИЛ-2 не изменяло пролиферативную активность спленоцитов молодых интактных и травмированных крыс. У старых травмированных животных наблюдали достоверное повышение угнетенной пролиферативной активности после ЧМТ, однако у интактных старых животных эта активность не изменялась. ЧМТ приводила к угнетению цитотоксической активности у молодых и старых животных, а введение рИЛ-2 повышало ее у травмированных крыс, но не изменяло цитотоксичность спленоцитов интактных молодых и старых крыс.

Заключение. рИЛ-2 в значительной степени реверсировал посттравматические изменения, т. е. экзогенный рИЛ-2 может в некоторой степени нивелировать связанные со старением дисфункции, развивающиеся или усиливающиеся после ЧМТ.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; ИЛ-2; кортикостерон; тестостерон; BDNF; спленоциты; пролиферация; цитотоксичность

Статья поступила 29.08.2020. Принята в печать 16.10.2020.

Для цитирования: Серебряная Н.Б., Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Шанин С.Н. Протективные возможности ИЛ-2 в условиях восстановления после черепно-мозговой травмы у животных разного возраста. Иммунология. 2020; 41 (6): 519–526. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-6-519-526>

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Серебряная Наталья Борисовна –
доктор медицинских наук, профессор,
заведующая лабораторией
общей иммунологии
отдела иммунологии ФГБНУ
«Институт экспериментальной
медицины» Минобрнауки,
Санкт-Петербург,
Российская Федерация
E-mail: nbvma@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2418-9368>

Serebryanaya N.B.^{1,2}, Fomicheva E.E.¹, Filatenkova T.A.¹, Shanin S.N.¹

Protective capabilities of IL-2 in recovery after traumatic brain injury in animals of different ages

¹Institute of Experimental Medicine of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, 197376, St. Petersburg, Russian Federation

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, 195067, St. Petersburg, Russian Federation.

Abstract

Introduction. Elder age is a significant negative health factor after traumatic brain injury (TBI).

Aim was to study the dynamics of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) level, immune and hormonal disturbances that develop in young and elderly rats during the recovery period after TBI with the correction by recombinant interleukin (IL)-2 (rIL-2).

Material and methods. The work was performed on male Wistar rats aged 3 (young) and 18 months (elderly). The «weight drop» model was used as a model for TBI. To correct disturbances caused by TBI animals were medicated with commercial recombinant rIL-2 («Biotech», Russian Federation) in dose of 30 mcg/kg of body weight after the TBI once a day for 3 days. Control animals were injected with 0.15 M NaCl. On days 7 and 14 after TBI, the concentrations of corticosterone, testosterone and BDNF in the blood of animals were determined by ELISA; the activity of immune cells was determined by their cytotoxicity and proliferative activity.

Results. In intact and injured animals, both young and elderly, increased concentrations of corticosterone and testosterone were observed after administration of rIL-2 compared to animals not receiving rIL-2. Administration of rIL-2 to intact young and elderly animals did not change the BDNF concentration. TBI led to a significant decrease in BDNF levels in young and old animals, but BDNF levels significantly increased after rIL-2 administration in TBI groups (in both groups $p < 0.05$). After TBI the proliferative activity of splenocytes in young rats did not decrease, while in elderly rats the inhibition of the proliferative activity of splenocytes was significant (the stimulation index was below one). Administration of rIL-2 did not change the proliferative activity of splenocytes in young intact and injured rats. In elderly animals, a significant increase of suppressed proliferative splenocytes activity after TBI was observed; but in intact animals, the proliferative activity of lymphocytes did not change. TBI led to inhibition of the cytotoxic activity of splenocytes in young and elderly animals; the administration of rIL-2 increased it in injured rats, but did not change it in intact young and elderly rats.

Conclusion. rIL-2 in significant degree reversed the posttraumatic changes. Thus, exogenic rIL-2 may to some degree mitigate elder-age-related disfunctions caused and boosted by TBI.

Keywords: traumatic brain injury; IL-2; corticosterone; testosterone; brain-derived neurotrophic factor; splenocytes; proliferation; cytotoxicity

Received 29.08.2020. Accepted 16.10.2020.

For citation: Serebryanaya N.B., Fomicheva E.E., Filatenkova T.A., Shanin S.N. Protective capabilities of IL-2 in recovery after traumatic brain injury in animals of different ages. *Immunologiya*. 2020; 41 (6): 519–26. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-6-519-526> (in Russian)

Funding. The study had no sponsor support.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Введение

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из актуальных проблем современного здравоохранения, особенно у пожилых лиц. В среднем у пожилых людей при ЧМТ отмечают более высокую заболеваемость и смертность, более медленное восстановление и худшие функциональные, когнитивные и психосоциальные исходы, чем у молодых людей [1]. Известно, что при старении в организме поддерживается хроническое низ-

коактивное воспаление. Старение изменяет состояние иммунной системы; принятый в настоящее время термин «immunosenescence» определяет как возрастные изменения в лимфоидных органах, так и изменение функции иммунных клеток, приводящие к снижению эффективности адаптивного иммунного ответа и гиперактивности клеток врожденного иммунитета [2]. Наиболее значимым при старении считают снижение способности Т-лимфоцитов к продукции интерлейкина (ИЛ)-2,

For correspondence

Natalya B. Serebryanaya –
MD, Professor, Head of the
General Immunology Laboratory,
Department of Immunology,
Institute of Experimental Medicine
of the MSHE of Russia,
Saint Petersburg, Russian Federation
E-mail: nbvma@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2418-9368>

поскольку дефицит ИЛ-2 приводит к уменьшению клонального расширения Т-лимфоцитов и угнетению специфического иммунного ответа [3]. Процесс иммунного старения имеет пагубные последствия для организма: теряется способность реагировать на вакцинацию и повышается риск развития новообразований [4], возрастает опасность развития аллергических и аутоиммунных заболеваний [5]. Возрастная инволюция тимуса приводит к снижению числа Т-клеток при старении, но при этом не все субпопуляции Т-клеток стареют одновременно. Было высказано предположение, что возрастные отклонения иммунной компетентности могут частично отражать изменение функции регуляторных Т-клеток. Так, при различных патологических состояниях, включая сердечно-сосудистую и неврологическую патологию, существенно изменяется количество циркулирующих Т-регуляторных клеток (Трег). Имеется достаточно данных, свидетельствующих, что количество CD4⁺-Трег с возрастом увеличивается [3]. Трег старых и молодых мышей подавляют пролиферацию CD8⁺-лимфоцитов и продукцию ИФН- γ в равной степени. Однако Трег старых мышей оказались не способны подавлять продукцию ИЛ-17 CD4⁺-Т-лимфоцитами и контролировать аутоиммунное воспаление [6]. Исследование влияния циркулирующих Трег на клинический исход ЧМТ показало, что количество Трег значительно ниже у лиц с ЧМТ с плохим исходом заболевания [7].

ИЛ-2 является незаменимым цитокином, поддерживающим выживание Трег [8], что позволило предположить возможность использования этого цитокина для борьбы с нерегулируемым избыточным провоспалительным иммунным ответом [5]. Дополнительные функции ИЛ-2, такие как его способность ингибировать образование провоспалительных Th17-клеток и фолликулярных Т-хелперов, которые являются критическими для производства аутоантител, могут быть синергичны с его воздействием на Трег при лечении аутоиммунных и воспалительных заболеваний [6]. Для преимущественного или избирательного нацеливания ИЛ-2 на Трег в настоящее время разработаны режимы использования малых доз ИЛ-2, которые не вызывают активации эффекторных Т-лимфоцитов и не имеют риска обострения воспалительных заболеваний. Согласно клиническим наблюдениям, введение рИЛ-2 пациентам с ЧМТ значительно снижает интенсивность посттравматических воспалительных процессов, повышая вероятность лучшего исхода заболевания [7, 9]. Процессы нейрорепарации после ЧМТ поддерживаются увеличением экспрессии в клетках микроглии генов нейротрофических факторов, способствующих выживаемости нейронов. Показано, что уровень BDNF (нейротрофический фактор мозга – brain-derived neurotrophic factor) при ЧМТ снижается пропорционально тяжести повреждения, что в значительной степени определяет пролонгацию посттравматического процесса [10]. В физиологических условиях BDNF стимулирует развитие нервных клеток центральной и периферической нервной системы, помогает поддерживать выживание существующих нейронов

и стимулирует рост и дифференцирование новых нейронов и синапсов. ИЛ-2 обладает способностью усиливать синтез и выделение BDNF [11, 12], а его введение после ЧМТ может, по-видимому, уменьшать последствия травматического повреждения мозга и обеспечивать повышение нейропротекторной и нейрорепаративной активности.

Избыточному воспалению при ЧМТ противостоят многочисленные регуляторные системы, в том числе гормональная. Важнейшей стресс-регулирующей системой является гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГГАКС). Своевременная активация ГГАКС обеспечивает адекватную секрецию кортикостерона и противодействует развитию избыточного вторичного воспаления. Параллельно меняется активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, поскольку половые гормоны выполняют свою специфическую нейропротекторную роль. В центральной нервной системе (ЦНС) тестостерон и его метаболиты выполняют функции нейростероидов и участвуют в регуляции обучения, формировании памяти, социально-поведенческой мотивации [13].

Цель работы – изучение динамики уровня BDNF, иммунных и гормональных нарушений, развивающихся у молодых и старых животных в период восстановления после ЧМТ в условиях коррекции препаратом рИЛ-2.

Материал и методы

Работа выполнена на крысах-самцах породы Wistar массой 230–280 г в возрасте 3 мес (молодые) и массой 400–450 г в возрасте 18 мес (старые). Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Все процедуры с животными проводили в одно и то же время. Содержание и уход за животными в виварии соответствовал основным правилам содержания и ухода за животными, изложенным в национальном стандарте РФ ГОСТ 33044-2014.

В качестве модели механической травмы головного мозга использовали модель «падающего груза»: груз массой 115 г падал с высоты 120 см в центр теменной части головы животного. Падение груза направлялось при помощи цилиндрической трубы с внутренним диаметром 20 мм, которая была жестко закреплена на штативе двумя держателями и центрирована над головой крысы. Расстояние между концом трубы и головой животного составляло 7 см. Установка для нанесения ЧМТ была собрана в отделе общей патологии и патофизиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России на основе литературных сведений об установках для модели «падающего груза» [14]. Перед нанесением травмы животные получали наркоз из расчета 3–5 мл медицинского эфира на 1 кг массы тела в смеси с атмосферным воздухом. Время выхода из наркоза составляло 90–240 сек после травмы. После нанесения травмы животных переносили в специаль-

ную пластиковую клетку, за ними велось наблюдение вплоть до восстановления нормальных поведенческих паттернов. Во время восстановления у крыс наблюдались асфиксия, судороги, носовые кровотечения. Через 30–40 мин после нанесения травмы животных возвращали в свою домашнюю клетку к нормальному режиму жизни и питания. К 7-му дню после ЧМТ у животных регистрировали потерю массы тела в пределах 5–15 % от исходной. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями нормативных документов, действующих в РФ и регламентирующих гуманное обращение с животными при медико-биологических исследованиях (№ 755 от 12.08.1977).

Для коррекции нарушений при ЧМТ животным вводили коммерческий препарат дрожжевого рекомбинантного человеческого интерлейкина-2 (ООО «НПК Биотех», Санкт-Петербург, Российская Федерация). Видовые различия в данном случае не являются критическими, поскольку на нуклеотидном уровне в кодирующей области ген ИЛ-2 человека и крысы имеет 72 % гомологии [15] и сохраняются все основные типы активности, присущие данному цитокину. После нанесения ЧМТ крысам ежедневно в течение 3 дней однократно в дозе 30 мкг/кг массы животного (на весь курс 3 инъекции) внутривентриально вводили рИЛ-2, который разводили стерильным изотоническим раствором хлорида натрия. Контрольным животным (также с ЧМТ) по той же схеме вводили 0,15 М NaCl в том же объеме и в те же дни. На 7-е и 14-е сутки после нанесения ЧМТ и после окончания курса лечения введением рИЛ-2 животных выводили из эксперимента декапитацией; собирали кровь для тестирования содержания гормонов, BDNF, извлекали селезенку для постановки иммунологических реакций у молодых и старых животных.

Определение концентрации кортикостерона, тестостерона и BDNF в крови животных проводили с помощью наборов для иммуноферментного анализа ELISA DRG Diagnostic (Германия) согласно протоколу, предложенному фирмой-производителем.

Цитотоксическую активность НК-клеток селезенки оценивали по их способности лизировать клетки линии эритромиелолойкоза человека K-562 *in vitro*. Реакцию между НК-клетками селезенки крыс и клетками-мишенями

(при соотношениях эффектор : мишень – 10 : 1) учитывали на планшетном флуориметре и выражали в процентах, полученных из соотношения уровня восстановленного резазурина в опытных пробах к его уровню в контрольной пробе с клетками-мишенями (% специфичности).

Пролиферативную активность спленоцитов определяли по интенсивности реакции их деления в ответ на воздействие конканавалина А (Кон А) (Sigma, США) в субоптимальной дозе 0,625 мкг/мл и рИЛ-1 (ФГУП «Государственный НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА, Санкт-Петербург, Российская Федерация) в дозе 100 пг/мл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с применением пакета прикладных программ Statistica (Version 6-Index, StatSoft Inc., США). Значения количественных параметров с нормальным распределением представлены средним арифметическим (M) с ошибкой среднего арифметического (m), для подтверждения достоверности различий использовали параметрический t -критерий Стьюдента, достоверными различия считали при $p < 0,05$.

Результаты

Исследование стероидных гормонов у интактных молодых и старых крыс показало, что концентрации кортикостерона (КС) существенно различаются: у старых животных уровень КС был почти в 2 раза выше, чем у молодых ($p < 0,05$) (табл. 1). После ЧМТ содержание КС в крови на 7-й день наблюдения достоверно снижалось только у старых животных. Хотя у некоторых молодых животных также отмечали снижение концентрации КС после ЧМТ, средние значения в группе травмированных молодых животных изменялись незначительно.

Введение рИЛ-2 молодым животным приводило к достоверному увеличению концентрации КС в группе интактных и травмированных животных. В группе старых интактных животных концентрация КС после введения рИЛ-2 существенно не возрастала, однако при этом исчезли различия в уровне указанного гормона при сравнении с его концентрациями у молодых животных. Введение рИЛ-2 после ЧМТ старым животным приво-

Таблица 1. Изменение концентраций кортикостерона, тестостерона и BDNF в сыворотке крови молодых и старых животных на 7-е сутки после нанесения черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и введения рИЛ-2

Группа животных ($n = 5$ в каждой группе)	Кортикостерон, нг/мл	Тестостерон, нг/мл	BDNF, мкг/мл
Интактные молодые	50,2 ± 8,0	2,8 ± 0,3	6,0 ± 1,2
Интактные старые	81,1 ± 9,0	1,7 ± 0,2	4,7 ± 0,5
Молодые, получавшие рИЛ-2	100,3 ± 12,4*	5,8 ± 0,5*	8,2 ± 1,4
Старые, получавшие рИЛ-2	98,1 ± 9,7	3,2 ± 0,3*	7,0 ± 1,8
Молодые с ЧМТ	37,6 ± 4,9	3,5 ± 0,5	3,8 ± 0,8*
Молодые с ЧМТ, получавшие рИЛ-2	110,5 ± 3,8**,**	8,0 ± 0,8**,**	9,1 ± 1,7**,**
Старые с ЧМТ	45,3 ± 2,8*	1,0 ± 0,1*	2,5 ± 0,2*
Старые с ЧМТ, получавшие рИЛ-2	108,2 ± 5,0**,**	4,6 ± 0,4**,**	8,5 ± 1,5**,**

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями у интактных животных соответствующих групп; ** $p < 0,05$ в сравнении с показателями у животных соответствующей группы, подвергнутых ЧМТ.

дило к достоверному повышению концентрации КС, причем достигнутый уровень концентрации гормона также совпадал с таковым у молодых животных.

Концентрация тестостерона (ТС) в крови интактных молодых и старых животных достоверно не различались. Нанесение ЧМТ не изменяло существенно концентрации ТС в сыворотке крови молодых животных, однако этот показатель достоверно снижался у старых животных. Введение рИЛ-2 как интактным, так и травмированным животным приводило к достоверному повышению концентрации ТС и в группе молодых, и в группе старых животных. При этом достигнутые уровни ТС у молодых животных были существенно выше тех, которые были зарегистрированы у старых крыс.

Таким образом, у интактных и травмированных животных, как молодых, так и старых, после введения рИЛ-2 наблюдали однонаправленные изменения (увеличения) концентраций КС и ТС (в отличие от нелеченых крыс), что, по нашему мнению, свидетельствует о нормализации гормональных реакций у старых животных при введении рИЛ-2 в посттравматический период.

Уровень BDNF в сыворотке крови интактных молодых и старых животных не различался. Введение рИЛ-2 интактным молодым и старым животным не привело к достоверному изменению концентрации BDNF в указанных группах животных. Нанесение ЧМТ вызывало достоверное снижение уровней BDNF у животных обеих групп, а после введения рИЛ-2 уровни BDNF существенно повышались и превышали таковые у интактных животных (в обеих группах $p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о способности рИЛ-2 значительно повышать концентрацию BDNF в сыворотке крови при нейровоспалении, что подтверждает зависимость между уровнями ИЛ-2 и BDNF, выявленную ранее [11]. У травмированных крыс повышение уровня BDNF может рассматриваться как позитивный результат, отражающий синхронизацию активности этого нейротропного фактора и нейростероидов КС и ТС.

Исследование пролиферативной и цитотоксической активности спленоцитов в группах интактных молодых

старых крыс показало, что эти параметры достоверно не различаются (табл. 2).

На фоне нейровоспаления, развивающегося после ЧМТ, пролиферативная активность спленоцитов молодых крыс существенно не снижалась, а в группе старых крыс угнетение пролиферативной активности спленоцитов было существенным на 7-е сутки после ЧМТ и усугублялось далее к 14-му дню после ЧМТ (индекс стимуляции оставался ниже единицы). 3-кратное введение рИЛ-2 в использованной нами дозе не изменяло пролиферативную активность спленоцитов молодых интактных и травмированных крыс. В группе старых животных при введении рИЛ-2 мы наблюдали достоверное повышение угнетенной пролиферативной активности спленоцитов и на 7-е, и на 14-е сутки после ЧМТ, однако у интактных животных пролиферативная активность лимфоцитов не изменялась.

Цитотоксическая активность спленоцитов интактных молодых и старых животных существенно не различалась и не изменялась при введении им рИЛ-2. ЧМТ приводила к угнетению цитотоксической активности спленоцитов в группах молодых и старых животных и на 7-е, и 14-е сутки после ЧМТ (см. табл. 2). Введение рИЛ-2 молодым животным после ЧМТ вызывало повышение уровня цитотоксической активности спленоцитов, которая на 7-й день после ЧМТ была достоверно выше по сравнению с активностью клеток травмированных животных, не получавших препарат. К 14-м суткам после травмы цитотоксическая активность спленоцитов молодых животных восстанавливалась до уровня их активности у интактных животных. Введение рИЛ-2 старым животным также повышало уровень цитотоксической активности спленоцитов на 7-е и 14-е сутки после ЧМТ, причем достигнутые параметры соответствовали таковым в группе молодых крыс, пролеченных рИЛ-2 после ЧМТ, т. е. полученные данные свидетельствуют о повышении (восстановлении) сниженной пролиферативной и цитотоксической активности спленоцитов у крыс после ЧМТ, пролеченных рИЛ-2.

Таблица 2. Цитотоксическая и пролиферативная активность спленоцитов крыс Wistar на 7-е и 14-е сутки после нанесения черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и введения рИЛ-2 у молодых и старых животных

Группа животных (n = 5 в каждой группе)	Пролиферативная активность (индекс стимуляции)		Цитотоксическая активность (%)	
	сутки		сутки	
	7-е	14-е	7-е	14-е
Интактные молодые	1,57 ± 0,68	1,54 ± 0,51	18,1 ± 2,3	17,3 ± 2,1
Интактные старые	1,50 ± 0,58	1,55 ± 0,53	17,5 ± 1,8	18,0 ± 2,0
Молодые, получавшие рИЛ-2	1,72 ± 0,70	1,59 ± 0,81	19,0 ± 3,4	17,4 ± 2,8
Старые, получавшие рИЛ-2	2,08 ± 0,93	1,87 ± 0,83	19,4 ± 3,5	18,7 ± 0,83
Молодые с ЧМТ	1,31 ± 1,02	1,75 ± 2,12	6,1 ± 0,9*	10,2 ± 2,1*
Молодые с ЧМТ, получавшие рИЛ-2	1,72 ± 0,72	1,37 ± 0,83	11,2 ± 2,5**	13,5 ± 2,0
Старые с ЧМТ	0,55 ± 0,32*	0,38 ± 0,11*	2,6 ± 0,1*	7,8 ± 1,4*
Старые с ЧМТ, получавшие рИЛ-2	1,19 ± 0,48**	1,15 ± 0,50**	9,3 ± 1,8**	14,1 ± 2,3**

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с показателями активности спленоцитов у контрольных животных; ** – $p < 0,05$ в сравнении с теми же показателями у животных, подвергнутых ЧМТ.

Обсуждение

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о позитивных изменениях уровней стресс-гормонов КС и ТС при введении рИЛ-2 как у животных контрольной группы, получавших только указанный препарат, так и у крыс, пролеченных рИЛ-2 после ЧМТ. Стресс-гормоны играют важную роль в обеспечении адаптации организма к воздействию факторов окружающей среды, способствуя поддержанию адекватного ответа организма на стрессовые воздействия и развивающееся воспаление при ЧМТ. Следует отметить, что между уровнями КС и ТС определены реципрокные взаимоотношения как у интактных животных, так и подвергнутых ЧМТ [11], однако они более выражены у молодых животных. По-видимому, у старых животных при ЧМТ нарушается адекватность реакции на стресс [16], что неблагоприятно влияет на процесс восстановления, поскольку нейростероиды обеспечивают нейропротекторное действие наряду с другими нейротропными факторами, в том числе BDNF [17]. Нейротрофин BDNF, повсеместно экспрессируемый в мозге, является фактором, поддерживающим выживание нейронов, нейрогенез и пластичность. Ранее было показано, что после ЧМТ уровни BDNF в сыворотке крови снижаются, что коррелирует с тяжестью травмы и возрастом животных [18]. В клинике у больных с ЧМТ уровень BDNF настолько тесно связан с тяжестью повреждения, что может быть использован как маркер тяжести травмы и предиктор исхода заболевания [19]. Полученные результаты согласуются с вышеприведенными данными и также свидетельствуют о снижении сывороточного уровня BDNF после травмы как у молодых, так и старых крыс. Однако другие авторы отмечали возможность повышения сывороточного уровня BDNF сразу после экспериментальной ЧМТ [20]. Также отмечено, что повышенные концентрации BDNF в цереброспинальной жидкости после ЧМТ связаны с неблагоприятным прогнозом [21]. Такие несоответствия могут быть связаны с разной степенью тяжести ЧМТ, достигаемой в эксперименте и в группах наблюдаемых больных. В проведенном нами исследовании введение рИЛ-2 как интактным, так и травмированным животным приводило к увеличению концентрации BDNF в сыворотке крови, причем изменения были особенно выражены у молодых животных. В контексте полученных нами данных мы склонны оценивать повышение концентрации нейротропного фактора BDNF как позитивный результат, учитывая однонаправленность изменения его уровня с изменениями уровней КТ и ТС.

Исследование состояния периферической иммунной системы при экспериментальной ЧМТ у животных разного возраста свидетельствует, что цитотоксическая активность спленцитов у старых мышей сохраняется в значительной степени, что подтверждается и данными научной литературы о том, что, хотя старение изменяет функциональные характеристики и НК-клеток, их суммарная цитотоксическая активность при здоровом старении не нарушается [22]. Однако после травмы ци-

тотоксическая активность спленцитов достоверно снижалась, причем более выраженно у старых животных. Исползованная нами доза рИЛ-2 при 3-кратном введении не оказывала самостоятельного стимулирующего действия на цитотоксическую активность спленцитов здоровых животных, что позволяет предполагать, что она соответствует так называемым низким лечебным дозам рИЛ-2. Аналогичным образом препарат не оказывал существенного влияния и на пролиферативную активность спленцитов интактных молодых и старых животных, только при введении рИЛ-2 старым крысам после ЧМТ показатели пролиферативной активности достоверно повышались по сравнению с нелечеными животными.

В последние годы низкие лечебные дозы рИЛ-2 используют в клинических экспериментальных исследованиях для избирательной активации Трег при коррекции иммунных нарушений у больных аутоиммунными заболеваниями [5]. В отличие от малых доз большие дозы рИЛ-2 вызывают стимуляцию эффекторных лимфоцитов и НК-клеток, превращая их в ЛАК-клетки, что используют для стимуляции противоопухолевого иммунитета [23]. С учетом известной высокой чувствительности НК-лимфоцитов к ИЛ-2, который является стимулятором их пролиферации и цитотоксичности [24], трактуя полученные нами данные, можно утверждать, что исползованная доза препарата достаточна для коррекции угнетенной НК-активности, которая развивается у животных после нанесения ЧМТ.

Заключение

Полученные в настоящем экспериментальном исследовании данные подтверждают представление о протективных возможностях рИЛ-2 при ЧМТ, в том числе о его способности усиливать синтез и выделение BDNF и снижать угнетающее влияние ЧМТ на функции нейроэндокринной и иммунной систем. Важно, что возраст животных, подвергнутых ЧМТ, существенно влияет на изменения иммунного ответа, причем старые животные имели гораздо большее угнетение иммунных параметров, что приводило к замедлению восстановления иммунных параметров после травмы. Введение рИЛ-2 в значительной степени реверсировало развившиеся после травмы изменения, в том числе и у старых животных, подтверждая, что экзогенный рИЛ-2 может в некоторой степени нивелировать связанные со старением дисфункции, развивающиеся после ЧМТ.

Вклад авторов

Концепция исследования – Серебряная Н.Б.; дизайн исследования, сбор и обработка материала – Фомичева Е.Е., Филатенкова Т.А., Шанин С.Н.; статистическая обработка – Шанин С.Н.; написание текста – Серебряная Н.Б.

Благодарность

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук, профессору А.В. Полевщикову за рецензирование и помощь при подготовке рукописи к публикации.

■ Литература

- Gardner R.C., Dams-O'Connor K., Morrissey M.R., Manley G.T. Geriatric traumatic brain injury: epidemiology, outcomes, knowledge gaps, and future direction. *J. Neurotrauma*. 2018; 35 (7): 889–906. DOI: <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5371>
- Sochocka M., Diniz B.S., Leszek J. Inflammatory response in the CNS: friend or foe? *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (10): 8071–89. DOI: <https://www.doi.org/10.1007/s12035-016-0297-1>
- Gong Z., Liu T., Wan Y., Hang Z., Tong X., Zhang B., Yang H., Zhang X., Zhang L., Jin G. Decreased c-rel activation contributes to aberrant interleukin-2 expression in CD4(+) T cells of aged rats. *Mol. Immunol.* 2014; 61 (1): 1–6. DOI: <https://www.doi.org/10.1016/j.molimm.2014.04.010>
- Rosenberg S.A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. *J. Immunol.* 2014; 192 (12): 5451–8. DOI: <https://www.doi.org/10.4049/jimmunol.1490019> PMID: 24907378.
- Tahvildari M., Dana R. Low-Dose IL-2 Therapy in Transplantation, Autoimmunity, and Inflammatory Diseases. *J. Immunol.* 2019; 203 (11): 2749–55. DOI: <https://www.doi.org/10.4049/jimmunol.1900733>
- Sun L., Hurez V.J., Thibodeaux S.R., Kious M.J., Liu A., Lin P., Murthy K., Pandeswara S., Shin T., Curiel T.J. Aged regulatory T cells protect from autoimmune inflammation despite reduced STAT3 activation and decreased constraint of IL-17 producing T cells. *Aging Cell.* 2012; 11 (3): 509–19. DOI: <https://www.doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00812.x>
- Li M., Lin Y.P., Chen J.L., Li H., Jiang R.C., Zhang J.N. Role of regulatory T cell in clinical outcome of traumatic brain injury. *Chin. Med. J. (Engl.)*. 2015; 128 (8): 1072–8. DOI: <https://www.doi.org/10.4103/0366-6999.155094>
- Сенников С.В., Хантакова Ю.Н. Роль субпопуляций Т-клеток в индукции иммунологической толерантности. *Иммунология*. 2017; 38 (4): 239–44. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2017-38-4-239-244>
- Леонов А.В. Мозговой кровотока при тяжелых черепно-мозговых травмах. *Общая реаниматология*. 2008; 4 (2): 9–13. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mozgovoy-krovotok-pri-tyazhelyh-cherepno-mozgovykh-travmah>
- Failla M.D., Kumar R.G., Peitzman A.B., Conley Y.P., Ferrell R.E., Wagner A.K. Variation in the BDNF gene interacts with age to predict mortality in a prospective, longitudinal cohort with severe TBI. *Neurorehabil Neural Repair*. 2015; 29 (3): 234–46. DOI: <https://www.doi.org/10.1177/1545968314542617>
- Фомичева Е.Е., Шанин С.Н., Филатенкова Т.А., Серебряная Н.Б. IL-2 как регулятор уровней стресс-гормонов и нейротропного фактора BDNF при экспериментальной черепно-мозговой травме. *Медицинская иммунология*. 2020; 22 (4): 647–56. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-IAR-1973>
- Серебряная Н.Б., Липатова Л.В., Сивакова Н.А., Василенко А.В. Рекомбинантный интерлейкин IL-2 человека как агент антиэпилептической терапии. *Российский иммунологический журнал*. 2014; 8 (3): 723–6. URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22813217_25671670.pdf
- Бабичев В.Н. Нейроэндокринный эффект половых гормонов. *Успехи физиологических наук*. 2005; 36 (1): 54–67. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9139556>
- Белошицкий В.В. Принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте. *УНЖ*. 2008; (4): 9–15. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/printsiy-modelirovaniya-cherepno-mozgovoy-travmy-v-eksperimente>
- Saleem B.N., Ghirmay K., Kahase M. In silico comparison of interleukin-2 of Homo sapiens with different species. *Pharma Focus: ERIPA*. 2011; 14: 32–7. URL: https://www.academia.edu/1153368/N_Saleem_Basha_Kewani_Ghirmay_and_Melles_Kahase_In_silico_comparison_of_interleukin_2_of_Homo_sapiens_with_different_species_Pharma_Focus_The_journal_of_Eritrean_Pharmaceutical_Association_ERIPA_Vol_14_Dec_10_2011_pp32_37
- Lo M.J., Kau M.M., Cho W.L., Wang P.S. Aging effects on the secretion of corticosterone in male rats. *J. Investig. Med.* 2000; 48 (5): 335–42. PMID: 10979238.
- de Assis G.G., Gasanov E.V. BDNF and cortisol integrative system – plasticity vs. degeneration: implications of the Val66Met polymorphism. *Front. Neuroendocrinol.* 2019; 55: 100784. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100784>
- Munoz M.J., Kumar R.G., Oh B.M., Conley Y.P., Wang Z., Failla M.D., Wagner A.K. Cerebrospinal fluid cortisol mediates brain-derived neurotrophic factor relationships to mortality after severe TBI: a prospective cohort study. *Front. Mol. Neurosci.* 2017; 10: 44. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00044>
- Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 45–53. DOI: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>
- Simon D., Nascimento R.I., Filho E.M., Bencke J., Regner A. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels after severe traumatic brain injury. *Brain Inj.* 2016; 30 (1): 23–8. DOI: <https://doi.org/10.3109/02699052.2015.1077993>
- Kalish H., Phillips T.M. Analysis of neurotrophins in human serum by immunoaffinity capillary electrophoresis (ICE) following traumatic head injury. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2010; 15; 878 (2): 194–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.10.022>
- Camous X., Pera A., Solana R., Larbi A. NK cells in healthy aging and age-associated diseases. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012; 195956. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/195956>
- Abbas A.K., Trotta E., Simeonov D., Marson A., Bluestone J.A. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Sci. Immunol.* 2018; 3 (25): eaat1482. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat1482>
- Abel A.M., Yang C., Thakar M.S., Malarkannan S. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1869. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01869>

■ References

- Gardner R.C., Dams-O'Connor K., Morrissey M.R., Manley G.T. Geriatric traumatic brain injury: epidemiology, outcomes, knowledge gaps, and future direction. *J. Neurotrauma*. 2018; 35 (7): 889–906. DOI: <https://doi.org/10.1089/neu.2017.5371>
- Sochocka M., Diniz B.S., Leszek J. Inflammatory response in the CNS: friend or foe? *Mol Neurobiol.* 2017; 54 (10): 8071–89. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0297-1>
- Gong Z., Liu T., Wan Y., Hang Z., Tong X., Zhang B., Yang H., Zhang X., Zhang L., Jin G. Decreased c-rel activation contributes to aberrant interleukin-2 expression in CD4(+)T cells of aged rats. *Mol Immunol.* 2014; 61 (1): 1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2014.04.010>
- Rosenberg S.A. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer. *J Immunol.* 2014; 192 (12): 5451–8. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1490019> PMID: 24907378.
- Tahvildari M., Dana R. Low-dose IL-2 therapy in transplantation, autoimmunity, and inflammatory diseases. *J Immunol.* 2019; 203 (11): 2749–55. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900733>
- Sun L., Hurez V.J., Thibodeaux S.R., Kious M.J., Liu A., Lin P., Murthy K., Pandeswara S., Shin T., Curiel T.J. Aged regulatory T cells protect from autoimmune inflammation despite reduced STAT3 activation and decreased constraint of IL-17 producing T cells. *Aging Cell.* 2012; 11 (3): 509–19. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00812.x>
- Li M., Lin Y.P., Chen J.L., Li H., Jiang R.C., Zhang J.N. Role of regulatory T cell in clinical outcome of traumatic brain injury. *Chin Med J (Engl)*. 2015; 128 (8): 1072–8. DOI: <https://doi.org/10.4103/0366-6999.155094>
- Sennikov S.V., Khantakova J.N. Role of T-cell subpopulations in the immunologic tolerance induction. *Immunology*. 2017; 38 (4): 239–44. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2017-38-4-239-244> (in Russian)
- Leonov A.V. Cerebral blood flow in severe traumatic brain injuries. *General Reanimatology*. 2008; 4 (2): 9–13. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mozgovoy-krovotok-pri-tyazhelyh-cherepno-mozgovykh-travmah> (in Russian)
- Failla M.D., Kumar R.G., Peitzman A.B., Conley Y.P., Ferrell R.E., Wagner A.K. Variation in the BDNF gene interacts with age to predict mortality in a prospective, longitudinal cohort with severe

TBI. *Neurorehabil Neural Repair*. 2015; 29 (3): 234–46. DOI: <https://doi.org/10.1177/1545968314542617>

11. Fomicheva E.E., Shanin S.N., Filatenkova T.A., Serebryanaya N.B. IL-2 and regulation of stress hormones and BDNF neurotrophic factor levels after experimental traumatic brain injury (TBI). *Medical Immunology (Russia)*. 2020; 22 (4): 647–56. URL: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-IAR-1973> (in Russian)

12. Serebryanaya N.B., Lipatova L.V., Sivakova N.A., Vasilenko A.V. Recombinant human interleukin IL-2 as an agent of antiepileptic therapy. *Russian Journal of Immunology*. 2014; 8 (3): 723–6. URL: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22813217_25671670.pdf (in Russian)

13. Babichev V.N. Neuroendocrine effect of sex hormones. *Advances in physiological sciences*. 2005; 36 (1): 54–67. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=9139556> (in Russian)

14. Beloshitskiy V.V. Principles of modeling traumatic brain injury in experiment. *UNJ*. 2008; (4): 9–15. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/printsipy-modelirovaniya-cherepno-mozgovoy-travmy-v-eksperimente> (in Russian)

15. Saleem B.N., Ghirmay K., Kahase M. In silico comparison of interleukin-2 of Homo sapiens with different species. *Pharma Focus: ERIPA*. 2011; 14: 32–7. URL: https://www.academia.edu/1153368/N_Saleem_Basha_Kewani_Ghirmay_and_Melles_Kahase_In_silico_comparison_of_interleukin_2_of_Homo_sapiens_with_different_species_Pharma_Focus_The_journal_of_Eritrean_Pharmaceutical_Association_ERIPA_Vol_14_Dec_10_2011_pp32_37

16. Lo M.J., Kau M.M., Cho W.L., Wang P.S. Aging effects on the secretion of corticosterone in male rats. *J Invest Med*. 2000; 48 (5): 335–42. PMID: 10979238.

17. de Assis G.G., Gasanov E.V. BDNF and cortisol integrative system – plasticity vs. degeneration: implications of the Val66Met

polymorphism. *Front Neuroendocrinol*. 2019; 55: 100784. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100784>

18. Munoz M.J., Kumar R.G., Oh B.M., Conley Y.P., Wang Z., Failla M.D., Wagner A.K. Cerebrospinal fluid cortisol mediates brain-derived neurotrophic factor relationships to mortality after severe TBI: a prospective cohort study. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 44. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00044>

19. Ostrova I.V., Avrushchenko M.S. Expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period. *General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 45–53. DOI: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53> (in Russian)

20. Simon D., Nascimento R.I., Filho E.M., Bencke J., Regner A. Plasma brain-derived neurotrophic factor levels after severe traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2016; 30 (1): 23–8. DOI: <https://doi.org/10.3109/02699052.2015.1077993>

21. Kalish H., Phillips T.M. Analysis of neurotrophins in human serum by immunoaffinity capillary electrophoresis (ICE) following traumatic head injury. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2010; 15; 878 (2): 194–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.10.022>

22. Camous X., Pera A., Solana R., Larbi A. NK cells in healthy aging and age-associated diseases. *J Biomed Biotechnol*. 2012; 195956. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/195956>

23. Abbas A.K., Trotta E., Simeonov D., Marson A., Bluestone J.A. Revisiting IL-2: Biology and therapeutic prospects. *Sci Immunol*. 2018; 3 (25): eaat1482. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat1482>

24. Abel A.M., Yang C., Thakar M.S., Malarkannan S. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Front Immunol*. 2018; 9: 1869. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01869>

Сведения об авторах

Серебряная Наталья Борисовна – д.м.н., проф., зав. лабораторией общей иммунологии отдела иммунологии, ведущий научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, проф. кафедры клинической микологии, аллергологии и иммунологии ФБГУВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; e-mail: nbvma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2418-9368>

Фомичева Елена Евгеньевна – к.б.н., с.н.с. отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; e-mail: eefomicheva@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9271-9757>

Филатенкова Татьяна Александровна – н.с. отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Минобрнауки России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; e-mail: lero269@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6911-7456>

Шанин Сергей Николаевич – к.м.н., старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, Санкт-Петербург, Российская Федерация; e-mail: shanins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8829-6552>

Authors' information

Natalya B. Serebryanaya – MD, Prof., Head of the General Immunology Laboratory of the Department of Immunology, Leading Researcher of the General Pathology and Pathophysiology Department of the Institute of Experimental Medicine of the MSHE of Russia, Prof. of the Clinical Mycology, Allergology and Immunology Department of the NWSMU named after I.I. Mechnikov, MOH of Russia, St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: nbvma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2418-9368>

Elena E. Fomicheva – PhD, Senior Researcher of the General Pathology and Pathophysiology Department of the Institute of Experimental Medicine of the MSHE of Russia, St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: eefomicheva@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9271-9757>

Tatyana A. Filatenkova – Researcher of the General Pathology and Pathophysiology Department of the Institute of Experimental Medicine of the MSHE of Russia, St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: lero269@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6911-7456>

Sergey N. Shanin – PhD, Senior Researcher of the General Pathology and Pathophysiology Department of the Institute of Experimental Medicine of the MSHE of Russia, St. Petersburg, Russian Federation; e-mail: shanins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8829-6552>