

© Коллектив авторов, 2020
УДК 615.33:615.03
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15083>
ISSN – 2073-8137

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ПРОДУКЦИЮ ДЕФЕНЗИНА- α ЛЕЙКОЦИТАМИ *IN VITRO*

Р. А. Можейко^{1,2}, А. Ю. Гуров^{1,2}, А. Н. Мальцев², Н. И. Пенькова¹, В. А. Батурин²

¹ Краевая клиническая больница, Ставрополь, Российская Федерация

² Ставропольский государственный медицинский университет, Российская Федерация

INFLUENCE OF INTERLEUKIN-2 ON THE PRODUCTION OF DEFENZINE- α BY LEUCOCYTES *IN VITRO*

Mozheiko R. A.^{1,2}, Gurov A. Yu.^{1,2}, Maltsev A. N.², Penkova N. I.¹, Baturin V. A.²

¹ Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russian Federation

² Stavropol State Medical University, Russian Federation

В опытах *in vitro* было изучено влияние интерлейкина-2 (ИЛ-2) на продукцию лейкоцитами дефензина- α 1. Кровь получали у больных с перитонитом (8 человек) и менингитом (7 пациентов), а также у 10 здоровых доноров, центрифугировали с выделением двух порций лейкоцитов. Первая порция была контрольной. Вторую инкубировали при 37 °С в среде с ИЛ-2. Получали супернатант, в котором методом ВЭЖХ определяли содержание дефензина- α 1. Установлено, что у здоровых доноров уровень дефензина- α 1 в первой порции лейкоцитов был ниже, чем у больных. При воздействии ИЛ-2 на лейкоциты второй порции у больных перитонитом и менингитом возникало выраженное повышение содержания дефензина- α 1 в супернатанте. При воздействии на лейкоциты здоровых доноров ИЛ-2 не вызывал существенного прироста уровня дефензина- α 1.

Ключевые слова: дефензин- α , перитонит, менингит, рекомбинантный интерлейкин-2

In *in vitro* experiments, the effect of interleukin-2 (IL-2) on leukocyte production of defensin- α 1 was studied. Blood was obtained in patients with peritonitis (8 people) and meningitis (7 patients), as well as in 10 healthy donors. Blood was centrifuged with the release of two portions of leukocytes. The first portion was the control. The second was incubated at 37 °C in a medium with IL-2. A supernatant was obtained in which the content of defensin- α 1 was determined by HPLC. It was established that in healthy donors the level of defensin- α 1 in the first portion of leukocytes was lower than in patients. Under the influence of IL-2 on the leukocytes of the second portion in patients with peritonitis and meningitis, there was a pronounced increase in the content of defensin- α 1 in the supernatant. When exposed to leukocytes from healthy donors, IL-2 did not cause a significant increase in the level of defensin- α 1 in the supernatant.

Keywords: defensin- α , peritonitis, meningitis, recombinant interleukin-2

Для цитирования: Можейко Р. А., Гуров А. Ю., Мальцев А. Н., Пенькова Н. И., Батурин В. А. ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА ПРОДУКЦИЮ ДЕФЕНЗИНА- α ЛЕЙКОЦИТАМИ *IN VITRO*. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(3):352-354. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15083>

For citation: Mozheiko R. A., Gurov A. Yu., Maltsev A. N., Penkova N. I., Baturin V. A. INFLUENCE OF INTERLEUKIN-2 ON THE PRODUCTION OF DEFENZIN- α BY LEUCOCYTES *IN VITRO*. *Medical News of North Caucasus*. 2020;15(3):352-354. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15083> (In Russ.)

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография ИЛ – интерлейкин

Рекомбинантный интерлейкин-2 (ИЛ-2) в последние годы активно применяется для лечения тяжелых хирургических инфекций [1]. Появились работы, показывающие, что этот иммуномодулятор может с успехом применяться для экстракорпоральной иммунофармакотерапии. Так, при введении интерлейкина-2 в клеточную массу крови, полученную при плазмаферезе, и её возврате в организм больного удаётся повысить эффективность лечения перитонита, панкре-

атита, гнойного риносинусита, метастатических абсцессов мозга [2, 3].

На современном этапе сложились представления, что при взаимодействии ИЛ-2 с лейкоцитами происходит их активация с продукцией иммунотропных соединений, в частности с образованием антимикробных пептидов. Последние, как известно, обеспечивают противомикробную защиту организма [2, 4]. В свою очередь, среди антимикробных пептидов наиболее интересны дефензины, поскольку

они обладают выраженным противомикробным действием широкого спектра [5, 6]. Поскольку дефензины- α продуцируются нейтрофилами [7, 8], представляется интересным оценить способность лейкоцитов к их продукции при различных формах инфекционных процессов.

Цель исследования – изучить *in vitro* влияние ИЛ-2 на продукцию дефензина- α 1 у здоровых людей и больных с острым перитонитом и гнойным менингитом.

Материал и методы. Исследование было проведено в опытах *in vitro* с лейкоцитами крови, полученной от больных с острым перитонитом (8 человек) и гнойным менингитом (7 человек), а также 10 здоровых доноров. Лейкоциты выделялись из 300 мл крови с помощью центрифугирования (режим 2000 оборотов в минуту, 15 минут). Удалялся слой плазмы, и лейкоциты разделялись на две порции. Первая порция лейкоцитов была контрольной. В ёмкость со второй порцией лейкоцитов вводился ИЛ-2 (Ронколейкин®, Российская Федерация) в дозе 500 000 ЕД. Далее обе порции лейкоцитов помещались в термостат на 30 минут при температуре 37 °С. Затем к обеим порциям лейкоцитов добавлялся физиологический раствор NaCl в количестве 150 мл. Проводилось центрифугирование (2000 оборотов в минуту, 15 минут). Супернатант отделялся для проведения исследования.

Определение уровня дефензина- α 1 проводилось методом ВЭЖХ по оригинальной методике на хроматографе «Люмакром» (Россия). Для построения калибровочной кривой использовали стандарт дефензина- α 1 производства Cloud-Clone Corp. (США).

Статистический анализ для парного сравнения контрольных данных (группа здоровых доноров) и результатов изучения лейкоцитов у больных перитонитом или менингитом проводили с применением непараметрических критериев (Вилкоксона – Манна – Уитни) с использованием стандартной программы STATISTICA 10. Значимыми признавались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведение экспериментальных работ *in vitro* показало, что в гидролизате лейкоцитов крови здоровых людей наблюдается целая группа низкомолекулярных пептидов, близких по своему молекулярному весу, наибольшая концентрация среди которых приходится на дефензин- α 1 (рис. 1). Вместе с тем уровень дефензина- α 1 в полученном супернатанте (первая порция лейкоцитов) был минимальным.

Инкубация лейкоцитов здоровых людей с ИЛ-2 приводила к снижению количества пиков и повышению концентрации дефензина- α 1 (рис. 2).

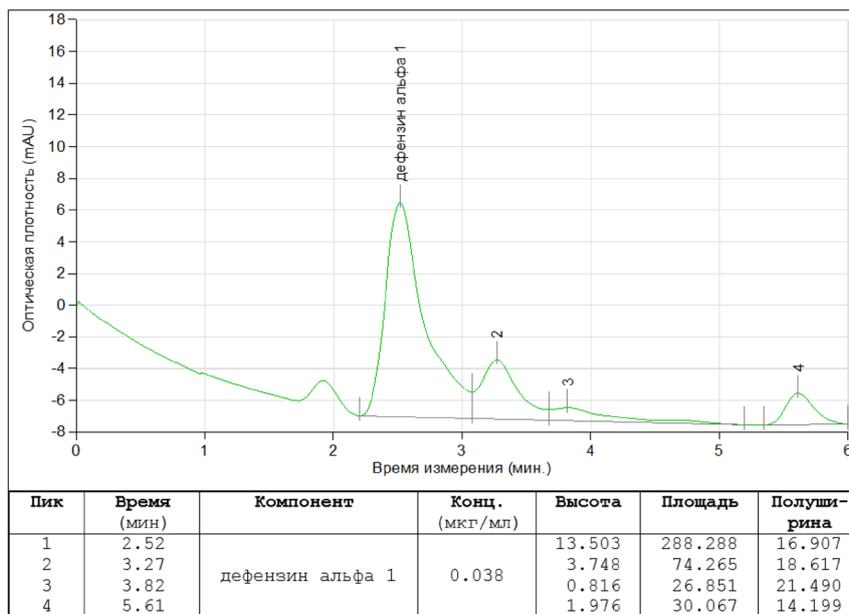


Рис. 1. Хроматограмма фракции низкомолекулярных пептидов, полученной у здоровых испытуемых

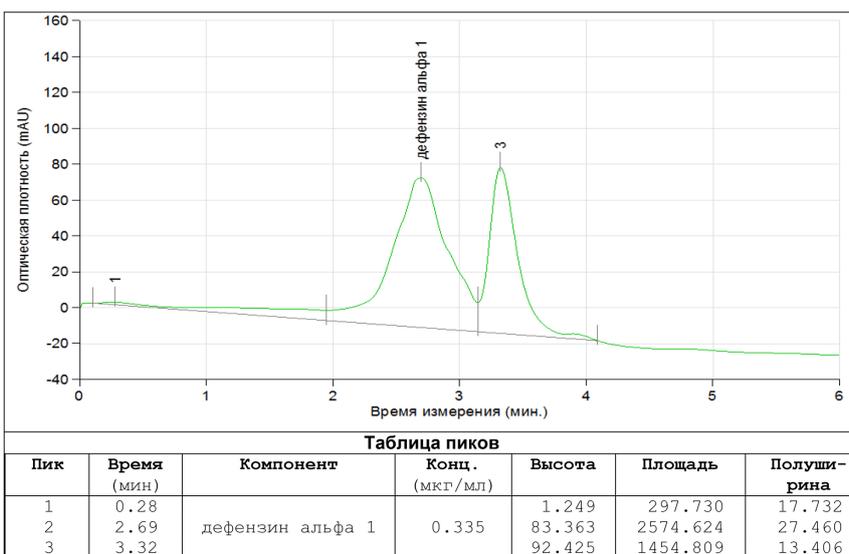


Рис. 2. Хроматограмма фракции низкомолекулярных пептидов при инкубации лейкоцитов с ИЛ-2

У больных с острым перитонитом содержание дефензина- α 1 в первой порции было достоверно больше, почти в три раза, чем у здоровых лиц в аналогичной порции лейкоцитов ($p=0,017$). Инкубация лейкоцитов с ИЛ-2 (вторая порция) в группе больных с перитонитом вызвала выраженное повышение концентрации дефензина- α 1 по сравнению с его уровнем в супернатанте из первой порции лейкоцитов ($p=0,012$) (табл.). Соответственно по сравнению с группой здоровых доноров уровень дефензина у больных перитонитом на фоне обработки ИЛ-2 был достоверно выше ($p=0,017$).

В группе больных с гнойным менингитом содержание дефензина- α 1 в супернатанте первой порции лейкоцитов также было выше, чем у здоровых лиц, почти в 5 раз ($p=0,018$). Добавление ИЛ-2 вызвало дополнительно существенное (почти в 3 раза) повышение концентрации дефензина- α 1 во второй порции лейкоцитарного супернатанта от этих пациентов ($p=0,018$).

Таблица
Влияние интерлейкина-2 на содержание дефензина-α1 в лейкоцитарном супернатанте у больных с острым перитонитом и гнойным менингитом

Группа обследованных	Время исследования		p
	до инкубации	после инкубации	
Здоровые доноры	Me=0,02 (0,014–0,033)	Me=0,024 (0,014–0,029)	0,57
Больные с перитонитом	Me=0,07* (0,047–0,024)	Me=0,514* (0,269–0,916)	0,012
Больные с менингитом	Me=0,115** (0,033–0,135)	Me=0,339** (0,314–0,371)	0,018

Примечание: * – p<0,017; ** – p<0,018 по сравнению с донорами.

Таким образом, проведенное исследование позволяет предположить, что при воздействии ИЛ-2 *in vitro* на лейкоциты пациентов с инфекционными процессами стимулируется продукция дефензина-α1, который в свою очередь обладает выраженной бактерицидной активностью. Возможно, что аналогичная ситуация наблюдается и в организме у больных гнойно-воспалительными заболеваниями. Это подтверждает терапевтическое действие ИЛ-2 при хирургических инфекциях влиянием на продукцию лейкоцитарных антимикробных пептидов.

Информированное согласие: В работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2000); исследование выполнено согласно основным правилам к проведению клинических исследований и одобрено комитетом по этике.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

- Chatham W. W. Biological Modifiers of Inflammatory Diseases. In: Clinical Immunology: Principles and Practice (Fifth ed.). Elsevier, 2019:1197-1210. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6896-6.00089-2>
- Yuzhalin A. E., Kutikhin A. G. Interleukin-2 Superfamily and Cancer. In Interleukins in Cancer Biology. 2015;63-89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801121-8.00003-8>
- Кошель В. И., Фаянс А. А., Иволга Т. И., Гуров А. Ю. Экстракорпоральная иммунофармакотерапия цитокинами (Интерлейкин-2) полипозно-гнойных риносинуситов. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2002;4(2):259-260. [Koshel V. I., Fajans A. A., Ivolve T. I., Gurov A. Ju. Jekstrakorporal'naja immunofarmakoterapija citokinami (Interlejkjn-2) polipozno-gnojnyh rinosinusitov. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2002;4(2):259-260. (In Russ.)].
- Алешина Г. М., Кокряков В. Н., Шамова О. В., Орлов Д. С. Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета. *Медицинский академический журнал*. 2010;(4):149-160. [Aleshina G. M., Kokrjakov V. N., Shamova O. V., Orlov D. S. Modern concept of antimicrobial peptides as molecular factors of the immunity. *Medicinskij akademicheskij zhurnal*. – *Medical academic journal*. 2010;(4):149-160. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/MAJ104149-160>
- Baturin V. A., Selimov M. A., Bolatchiev A. D., Sadovoy V. V., Budkevich R. O., Baturina M. V. The prognosis and investigation of α-defensins-1 (HNP-1) influence on morphological changes of *Staphylococcus aureus* cells by the atomic-force microscopy data. *Medical news of North Caucasus*. 2017;12(3):290-294. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2017.12086>
- Bolatchiev A., Baturin V., Bazikov I., Maltsev A., Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and HBD-1 on *Staphylococcus aureus* strains in vitro and in vivo. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 2020;34(1):102-108. <https://doi.org/10.1111/fcp.12499>
- Гришин Д. В., Соколов Н. Н. Дефензины – естественные пептидные антибиотики высших эукариот. *Биомедицинская химия*. 2014;60(4):438-447. [Grishin D. V., Sokolov N. N. Defenziny – estestvennye peptidnye antibiotiki vysshih jeukariot. *Biomedicinskaja himija*. – *Biomedical chemistry*. 2014;60(4):438-447. (In Russ.)].
- Болатчиев А. Д., Батурин В. А. Дефензины. Роль в патологии человека и перспективы применения. *Вестник молодого ученого*. 2016;(4):17-22. [Bolatchiev A. D., Baturin V. A. Defensins. The role in human pathology and application prospects. *Vestnik mladogo uchenogo*. – *Bulletin of the young scientist*. 2016;(4):17-22. (In Russ.)].

Сведения об авторах:

Можейко Ростислав Александрович, кандидат медицинских наук, главный врач, доцент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики; тел.: (8652)295532

Гуров Александр Юрьевич, кандидат медицинских наук, врач-анестезиолог-реаниматолог, ассистент кафедры анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи; тел.: 89624573338; e-mail: gurov.al39@gmail.com

Мальцев Александр Николаевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологии биологически активных веществ и нанотехнологий центра фармакологии и биотехнологий; тел.: (8652)352475; e-mail: maltsev7@rambler.ru

Пенькова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, биолог лаборатории клинической микробиологии; тел.: 89188706590; e-mail: ladyzimina@yandex.ru

Батурин Владимир Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии с курсом ДПО; тел.: (8652)357369; e-mail: prof.baturin@gmail.ru