

**С.С. Бондарь¹, И.В. Терехов¹, В.К. Парфенюк²,
Н.В. Бондарь³, В.С. Никифоров^{*4}**

¹ — ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Тула, Россия

² — ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия

³ — ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева», Орел, Россия

⁴ — ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

ВЗАИМОСВЯЗЬ ТИОЛОВОГО СТАТУСА И КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ВОСПАЛЕНИЕ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ

S.S. Bondar¹, I.V. Terekhov¹, V.K. Parfenyuk², N.V. Bondar³, V.S. Nikiforov^{*4}

¹ — Tula State University, Tula, Russia

² — Saratov State Medical University, Saratov, Russia

³ — Orel State University, Orel, Russia

⁴ — North-Western State Medical University n. a. I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

THE RELATIONSHIP OF THIOL STATUS, AND COMPONENTS OF SIGNALING PATHWAYS THAT REGULATE INFLAMMATION IN CONVALESCENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Резюме

В исследовании обсуждается взаимосвязь концентрации тиолов в межклеточной жидкости с уровнем мононуклеарных клетках периферической крови (МНК) у реконвалесцентов внебольничной пневмонии (ВП) компонентов митоген-активируемого (МАРК), стресс-активируемого (SAPK) и JAK/STAT-сигнальных путей, ядерного фактора транскрипции NF-κB. Методом иммуноферментного анализа в МНК определяли содержание и уровень фосфорилирования протеинкиназы JAK2, сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции STAT3, STAT5A, STAT6, ингибитора ядерного фактора транскрипции NF-κB (IκBα), стресс-активируемых протеинкиназ JNK, ERK, уровень субъединицы p50 ядерного фактора транскрипции NF-κB. Результаты проведенного исследования свидетельствует о том, что стадия реконвалесценции ВП характеризуется дефицитом антиоксидантной защиты, проявляющейся снижением концентрации в супернатанте тиоловых соединений на фоне чего отмечается снижение уровня фосфорилирования протеинкиназы JAK2, факторов STAT3, STAT5, STAT6, JNK, что так же ассоциировано с повышением уровня фосфорилирования протеинкиназы ERK. Проведенный анализ показал, что тиоловый статус характеризуется положительной взаимосвязью с активностью STAT5A, JNK, p50. При этом уровень тиолов и ERK, а также STAT3 отличался отрицательным характером взаимосвязи. Таким образом, повышение уровня тиолов способствует повышению активности транскрипционного фактора STAT5A и снижению — STAT3 с соответствующим изменением клеточной реактивности в отношении специфических цитокинов, а также специфическим влиянием на дифференцировку отдельных популяций иммунокомпетентных клеток.

Ключевые слова: тиоловый статус, STAT5A, пневмония, NF-κB

Для цитирования: Бондарь С.С., Терехов И.В., Парфенюк В.К., Бондарь Н.В., Никифоров В.С. ВЗАИМОСВЯЗЬ ТИОЛОВОГО СТАТУСА И КОМПОНЕНТОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ВОСПАЛЕНИЕ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИИ. Архивъ внутренней медицины. 2018; 8(6): 451-457. DOI: 10.20514/2226-6704-2018-8-6-451-457

Abstract

The study discusses the relationship of thiol concentrations in intercellular fluid with the level of peripheral blood mononuclear cells (MNCs) in convalescents with community-acquired pneumonia (CAP) components MAPK/SAPK and JAK/STAT-signaling pathways, nuclear transcription factor NF- κ B. The content and level of phosphorylation of JAK2 protein kinase, signal transducers and transcription activators STAT3, STAT5A, STAT6, NF- κ B nuclear transcription factor inhibitor (I κ Ba), stress-activated protein kinases JNK, ERK, the level of the p50 subunit of nuclear transcription factor NF- κ B were determined by enzyme immunoassay in MNC. The results of the study indicate that the stage of reconvalescence of CAP is characterized by a lack of antioxidant protection, manifested by a decrease in the concentration of thiol compounds in the supernatant against which there is a decrease in the level of phosphorylation of protein kinase JAK2, factors STAT3, STAT5, STAT6, JNK, which is also associated with an increase in the level of phosphorylation of protein kinase ERK. The analysis showed that the thiol status is characterized by a positive relationship with the activity of STAT5A, JNK, p50. The level of thiols and ERK, as well as STAT3, was characterized by a negative relationship. Thus, the increase in the level of thiols contributes to the increase in the activity of the transcription factor STAT5A and decrease-STAT3 with a corresponding change in cell reactivity with respect to specific cytokines, as well as a specific effect on the differentiation of individual populations of immunocompetent cells.

Key words: *thiols, STAT5A, pneumonia, NF- κ B*

For citation: Bondar S.S., Terekhov I.V., Parfenyuk V.K., Bondar N.V., Nikiforov V.S. THE RELATIONSHIP OF THIOL STATUS, AND COMPONENTS OF SIGNALING PATHWAYS THAT REGULATE INFLAMMATION IN CONVALESCENTS WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA. The Russian Archives of Internal Medicine. 2018; 8(6): 451-457. [In Russian]. DOI: 10.20514/2226-6704-2018-8-6-451-457

DOI: 10.20514/2226-6704-2018-8-6-451-457

ERK — протеинкиназа экстраклеточного роста, I κ Ba — ингибитор ядерного фактора транскрипции κ B, NF- κ B — ядерный фактор транскрипции κ B, JAK — янус-киназы, JNK — c-jun-N-терминальная протеинкиназа, MAPK — митоген-активируемые протеинкиназы, p50 — субъединица p50 ядерного фактора транскрипции κ B, SAPK — стресс-активируемые протеинкиназы, STAT — сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции, АОЗ — антиоксидантная защита, ВП — внебольничная пневмония, ИКК — иммунокомпетентные клетки, МНК — мононуклеарные клетки, ПОЛ — перекисное окисление липидов, ТС — тиоловые соединения

Хорошо известно, что состояние антиоксидантной защиты (АОЗ) определяет активность процессов саногенеза при различных патологических состояниях. При этом дефицит антиоксидантов либо снижение активности ферментов АОЗ приводит к усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ), что сопровождается нарушением структуры и функции мембран, нарушению ферментативной активности молекул, активацией процессов апоптоза, сохранению провоспалительной активации иммунокомпетентных клеток [1]. Вместе с тем, ПОЛ играет важную физиологическую роль, регулируя процессы биосинтеза простагландинов, лейкотриенов, тромбосана, что определяет важность для нормального течения процессов саногенеза поддержания состояния ПОЛ/АОЗ на оптимальном для организма уровне, избегая значительного дефицита антиоксидантов [2, 3].

Баланс АОЗ/ПОЛ поддерживается за счет функционирования специфических ферментов, катализирующих расщепление активных форм кислорода, в числе которых супероксиддисмутаза, каталаза, тиоредоксинредуктаза и др. При этом, дефицит антиоксидантов, в том числе тиоловых соединений (ТС) ассоциирован с повышенной заболеваемостью вирусными инфекциями, в том числе, вызываемых рино-синцитиальным вирусом и метапневмовирусом. На этом фоне подавление АОЗ сопровождается избыточной провоспалительной активацией иммунокомпетентных клеток, снижением эффективности фагоцитоза, повышенной продукцией цитокинов и затяжным разрешением патологического процесса, что ассоциировано с развитием у таких больных разнообразных осложнений [4]. Также показано, что многие внутриклеточные молекулярные регуляторы,

такие как протеинкиназы, входящие в состав внутриклеточных сигнальных путей, являются редокс-чувствительными молекулами, реагирующими на дефицит антиоксидантов активацией и стимуляцией метаболических процессов, приводящих к апоптозу, либо дифференцировке иммунокомпетентных клеток, в частности, поляризации макрофагов, дифференцировке Т-хелперов и т.п. [2]. Кроме этого, активация внутриклеточных сигнальных путей в частности MAPK/SAPK и JAK/STAT в ответ на стимуляцию клеток бактериальными компонентами и цитокинами приводит к истощению пула антиоксидантов за счет их повышенного расходования при формировании системной воспалительной реакции протекающей на фоне усиления продукции активных форм кислорода [2, 3]. В свою очередь реконвалесценция острого инфекционно-воспалительного процесса зачастую сопровождается дисрегуляцией внутриклеточных сигнальных механизмов, так же протекает на фоне дефицита АОЗ, определяющегося снижением продукции антиоксидантов [4-6].

При этом дефицит антиоксидантов способствует прогрессированию таких хронических неинфекционных заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, атеросклероз, сахарный диабет, способствуя также преждевременному старению организма и угнетению репаративных процессов в тканях [1, 3]. Вместе с тем, несмотря на важность данного вопроса, взаимосвязь внутриклеточных молекулярных регуляторов, определяющих клеточную реактивность в отношении внешних сигналов и состояние ПОЛ/АОЗ на завершающей стадии воспалительного процесса исследовано недостаточно полно. В связи с вышеуказанными положениями, целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи

компонентов MAPK/SAPK и JAK/STAT-сигнальных путей с концентрацией в клеточных супернатантах тиоловых соединений у реконвалесцентов внебольничной пневмонии (ВП).

Материалы и методы

Материалом для исследования служила венозная кровь, взятая в утренние часы (с 7:00 до 7:30) из локтевой вены. В основную (опытную) группу входили 30 пациентов мужского пола (средний возраст — $26 \pm 5,2$ г.) с бактериальной ВП легкого течения (60–65 баллов по шкале PORT) на 15–17 сут. заболевания (непосредственно перед выпиской из клиники). Контрольную группу составили 15 практически здоровых доноров крови, мужчин, в возрасте 20–37 лет (средний возраст — 27 ± 6 лет).

Диагноз пневмонии верифицирован в соответствии с национальными клиническими рекомендациями (2013). Критериями включения пациентов в исследование являлись: рентгенологическая верификация инфильтративных изменений в легких, односторонний сегментарный характер инфильтративных изменений, бактериологическая верификация грамположительных микроорганизмов, являющихся типичными возбудителями пневмонии (*S. pneumoniae*, *S. aureus*), а так же *M. pneumoniae*, неосложненное течение заболевания, положительный эффект проводимой терапии (уменьшение объема инфильтративных изменений не менее чем на 2/3 от исходного уровня к моменту выписки из стационара). Все пациенты получали парентеральную антибиотикотерапию цефалоспоридами III поколения (цефотаксим), в среднесуточной дозе 2 г, либо кларитромицином в среднесуточной дозе 1 г, нестероидные противовоспалительные препараты, физиотерапевтическое лечение.

Проведение клинического исследования было одобрено Ученым советом и Локальным этическим комитетом медицинского института ФГБОУ ВО «Тулский государственный университет» (Протокол № 2 от 01.09.2014 г.). Все пациенты и доноры подписывали информированное согласие.

В работе использовали наборы для культивирования и митогенной стимуляции клеток цельной крови «Цитокин-Стимул-Бест» (ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск). 1 мл цельной крови в стерильных условиях вносили во флакон, содержащий 4 мл поддерживающей среды DMEM, гепарин (2,5 ЕД/мл), гентамицин (100 мкг/мл) и L-глутамин (0,6 мг/мл). Все образцы крови помещали в термостат (37°C) и инкубировали в течение 24 ч. После инкубации из флаконов с образцами крови забирали 1 мл супернатанта для определения с методом иммуноферментного анализа (ИФА) концентрации тиоловых соединений.

Для получения фракции МНК 4 мл клеточной суспензии наслаивали на раствор фиколл-верографина ($\rho=1,077$, МедБиоСпектр, Россия) с последующим

центрифугированием при 5000 об/мин. в течение 30 мин. Выделенные МНК дважды отмывали в фосфатно-солевом буфере и 1 мл клеточной суспензии, содержащей 5×10^6 клеток, лизировали, используя раствор следующего состава (Sigma-Aldrich, США): 10 mM Tris, pH 7,4; 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 2 mM Na_3VO_4 , 1% Triton X-100, 10% глицерола, 0,1% SDS, 0,5% дексихолата, 1 mM PMSF (матричный 0,3 M раствор в DMSO). В лизирующий раствор добавляли (ex tempore) 1% коктейля ингибитора протеаз (Sigma-Aldrich, США), выдерживали на льду (при $t=+4-5^\circ\text{C}$) в течение 15 мин., аликвотировали и замораживали при -76°C .

В полученных лизатах методом ИФА оценивали содержание (в условных единицах на нг белка — ед/нг) дважды фосфорилированной по тирозину в положении 1007/1008 рецепторной протеинкиназы JAK2, фосфорилированной по тирозину в положении 705 формы сигнального трансдуктора и активатора транскрипции STAT3, фосфорилированной в положении 694 формы STAT5A, фосфорилированной в положении 641 формы STAT6. Так же определяли уровень фосфорилирования по тирозину в положении 202/204 протеинкиназы ERK (изоформы 1 и 2), а также уровень фосфорилирования по триптофану и тирозину в положении 183 и тирозину в положении 185 протеинкиназы JNK (изоформы 1 и 2). Кроме того, определяли концентрацию субъединицы p50 ядерного фактора транскрипции NF- κ B.

При проведении исследований использовались наборы Cusabio biotech (Китай), Panomix, США, Cloud-Clone, США, IBL, Германия, Bender Medsystems, Австрия. Иммуноферментный анализ проводился на анализаторе Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия) в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем наборов реагентов.

Подсчет клеток и анализ их жизнеспособности выполняли на счетчике клеток TC20 (Bio-Rad, США). Жизнеспособность выделенных МНК превышала 90%.

Статистическую обработку осуществляли с применением программы Statistica 7.0. Результаты исследования представлены в виде: среднее значение (\bar{x}), медиана выборки (Me); 25 и 75 процентиля (25%, 75%). Статистическую значимость (p) межгрупповых различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Взаимосвязи между исследуемыми факторами оценивали методом линейного регрессионного анализа с пошаговым включением переменных в математическую модель.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования представлены в табл. 1. Проведенный анализ показал, что у реконвалесцентов ВП на фоне дефицита тиоловых соединений имеет место снижение уровня фосфорилирования

Таблица 1. Уровень исследованных показателей в группах
Table 1. The level of the studied parameters in groups

Факторы/ Factors	Контрольная группа/ Control group				Основная группа/ Core group			
	<i>x</i>	25%	Me	75%	<i>x</i>	25%	Me	75%
JAК2, ед/нг	0,82	0,71	0,82	0,94	0,6	0,42	0,59	0,73
STAT3, ед/нг	0,99	0,82	0,99	1,17	0,91	0,67	1,0	1,11
STAT5A, ед/нг	0,81	0,78	0,81	0,84	0,65	0,56	0,66	0,72
STAT6, ед/нг	2,29	2,29	2,30	2,3	1,82	1,34	1,68	2,02
JNK, ед/нг	1,03	1,03	1,03	1,03	0,9	0,67	0,83	1,13
ERK, ед/нг	3,17	3,08	3,17	3,26	3,32	2,67	3,25	3,6
p50, нг/мл	1,38	1,36	1,39	1,41	1,35	1,11	1,34	1,56
ТС, мкмоль/мл	2,46	2,17	2,46	2,75	2,12	1,65	2,21	2,66

протеинкиназы JAК2 и JNK, а также STAT-факторов. Указанные изменения ассоциировались с повышением активности в МНК протеинкиназы ERK. Статистическая значимость выявленных различий представлена в табл. 2.

Таблица 2. Статистическая значимость выявленных различий факторов

Table 2. Statistical significance of the identified differences

Факторы/ Factors	Величина межгрупповых различий/ The magnitude of intergroup differences	Уровень значимости различий/ The level of significance of differences (p)
JAК2	-26,8	0,007
STAT3	-8,1	0,007
STAT5	-19,8	0,007
STAT6	-20,5	0,00001
JNK1/2	-12,6	0,00001
ERK1/2	4,7	0,007
p50	-2,2	0,35
ТС	-13,8	0,007

Таблица 3. Результаты линейного регрессионного анализа

Table 3. Results of linear regression analysis

Фактор/ Factor	β	m_{β}	B	m_B	t	p
STAT3	-0,41	0,2	-0,95	0,45	-2,1	0,046
STAT5	0,7	0,23	2,26	0,73	3,09	0,005
JNK1/2	0,67	0,22	0,76	0,25	3,01	0,006
ERK1/2	-0,57	0,27	-0,88	0,41	-2,11	0,045
p50	0,64	0,22	1,03	0,36	2,9	0,008

Примечание: B — регрессионный коэффициент; β — стандартизированный регрессионный коэффициент; m_{β} — стандартная ошибка оценки регрессионного коэффициента; m_B — стандартная ошибка оценки стандартизированного регрессионного коэффициента; t — значение T-критерия для включенного в модель фактора; p — уровень значимости T-критерия

Note: B — regression coefficient; β — standardized regression coefficient; m_{β} — Standard error of regression coefficient estimation; m_B — Standard error of estimating the standardized regression coefficient; t — The value of t-test for factor included in the model; p — Level of significance of the T-test.

Анализ статистической значимости выявленных межгрупповых различий, свидетельствует о том, что фаза реконвалесценции сопровождается нормализацией содержания в МНК содержания терминальных протеинкиназ MAPK/SAPK-сигнального пути, в частности ERK и JNK. Вместе с тем, на этом фоне имеет место повышение активности протеинкиназы ERK, а также снижение активности JNK, что отражается в соответствующем изменении статуса их фосфорилирования.

Исследование характера взаимосвязи между компонентами сигнальных путей и концентрацией тиоловых соединений, проведено методом линейного регрессионного анализа с пошаговым включением переменных в регрессионную модель, результаты которого представлены в табл. 3.

Результаты регрессионного анализа свидетельствуют о том, что коэффициент корреляции регрессионного уравнения (R), отражающий силу связи концентрации тиолов с комбинацией факторов, включенных в модель, составил 0,98, коэффициент детерминации, определяющий долю изменчивости концентрации тиоловых соединений, объясняемую полученной математической моделью (R²) составил 0,96 (скорректированный коэффициент детерминации — 0,94), указывая на высокую степень влияния исследуемых показателей на ТС.

Модель характеризуется статистической значимостью, на что указывает значение F-критерия (F = 266,5; p < 0,0000) и низкой корреляцией остатков (коэффициент Дарбина-Уотсона = 1,7; коэффициент линейной корреляции остатков = 0,15). Стандартная абсолютная ошибка оценки модели составляет 0,54 ед, что составляет 25,5% от среднего значения оцененной концентрации тиолов.

При этом в рассматриваемой модели наиболее значимое положительное влияние на состояние тиолового статуса оказывает состояние фактора STAT5A, содержание в клетке протеинкиназы JNK и компонента p50 ядерного фактора транскрипции NF- κ B, тогда как отрицательное влияние на концентрацию тиоловых соединений оказывают концентрация фактора ERK и уровень фосфорилирования STAT3.

Таблица 4. Результаты оценки частных корреляций
Table 4. The results of the evaluation of private correlations

Фактор/ Factor	Частная корреляция/ Private correlation (r)	Полу-частная корреляция/ Semi-private correlation (r)	Коэффициент детерминации/ Coefficient of determination (R ²)
STAT3	-0,31	-0,04	0,96
SATA5A	0,39	0,07	0,98
JNK1/2	0,37	0,09	0,95
ERK1/2	-0,09	-0,02	0,96
ρ50	0,38	0,06	0,96

Результаты статистического анализа свидетельствуют о том, что выявленная нами зависимость концентрации тиолов от уровня и активности компонентов исследованных сигнальных путей может иметь следующий вид:

$$TC = 2,26 \times STAT5A + 0,76 \times JNK + 1,03 \times \rho50 - 0,88 \times ERK - 0,95 \times STAT3$$

В табл. 4 представлены значения частной и полу-частной корреляций компонентов, отражающих характер взаимосвязи каждого конкретного компонента сигнальных путей, включенного в модель и концентрации тиоловых соединений, в условиях исключения влияния остальных факторов.

Анализ частных корреляций свидетельствует о том, что исследуемые факторы, в целом, отличаются умеренным характером связи с концентрацией тиолов, при этом взаимосвязь содержания тиоловых соединений и ERK является слабой. Вместе с тем, высокий коэффициент детерминации определяет соответствующий уровень достоверности выявленных корреляций, отражающих опосредованный характер имеющихся взаимосвязей.

Обсуждение результатов исследования

Постклиническая фаза ВП протекает на фоне снижения фосфорилирования компонентов JAK/STAT-сигнального пути, а также протеинкиназы JNK, при повышении активности протеинкиназы ERK сопровождающимся снижением концентрации тиоловых соединений. Указанное обстоятельство отражает дисрегуляторные изменения и дефицит АОЗ у обследованных больных [5, 6]. Результаты проведенного статистического анализа позволили оценить характер взаимосвязей исследованных регуляторных компонентов и тиолового статуса, отражающего состояние АОЗ в межклеточной среде клеток цельной крови. При этом выявлена значимая ассоциация концентраций тиолов в межклеточной среде с со-

держанием в МНК факторов STAT5A и ρ50, а также протеинкиназы JNK и ERK. Учитывая умеренный характер взаимосвязей тиолового статуса и исследованных компонентов сигнальных путей и их стохастическую природу, очевидно, что механизм выявленной взаимосвязи заключается в опосредованном влиянии тиолов на статус редокс-чувствительных компонентов регуляторов молекулярных механизмов, в том числе, таких фосфатаз, как РТР1В, РР2СА, МСР-1, непосредственно регулирующих активности MAPK/SAPK- и JAK/STAT-сигнальных путей [2, 7]. Описанная математическая модель, связывающая уровень тиолов и состояние сигнальных молекулярных механизмов клеточной реактивности, может также рассматриваться в качестве прогностической. При этом можно полагать, что повышение уровня тиолов в крови будет сопровождаться повышением активности транскрипционного фактора STAT5A, что, в свою очередь, дает основания предполагать повышение чувствительности клеток к таким цитокинам, как ИЛ-2, ИЛ-3, а также эритропоэтину и тромбопоэтину, стимулирующим гемопоэз [8, 9]. Вместе с тем снижение активности STAT3 сопровождающееся ограничением чувствительности клеток к провоспалительным цитокинам, в том числе ИЛ-6 и ИЛ-5, а также торможением дифференцировки Т-хелперов-17, позволяет предполагать формирование провоспалительных эффектов от повышения концентрации тиолов в крови. Кроме того, стимуляция содержания в клетке протеинкиназы JNK у реконвалесцентов под влиянием тиолов может способствовать стимуляции репарации двухцепочечных разрывов ДНК за счет фосфорилирования сиртуина [10]. В свою очередь повышение уровня STAT5A определяет активацию механизмов саногенеза, определяющих восстановление нормального уровня АОЗ [11, 12]. Учитывая полученные результаты можно полагать, что динамика уровня тиоловых соединений в организме может рассматриваться в качестве одной из целей терапии инфекций нижних отделов респираторного тракта, а также иммунореабилитации таких пациентов, характеризующихся сохранением провоспалительной активации иммунокомпетентных клеток (ИКК) в фазу реконвалесценции ВП, отражающих незавершенность патологического процесса к моменту клинического выздоровления [13]. В этих условиях стимуляция накопления в межклеточной жидкости восстановленных тиоловых соединений, повышая антиоксидантный статус будет способствовать ускорению восстановления патологических отклонений, вызванных инфекционно-воспалительным процессом, в том числе, нормализации реактивности ИКК [14]. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что стимуляция ИКК компонентами патогенов, а также цитокинами с активацией внутриклеточных молекулярных путей передачи рецепторной информации играет важную роль в поддержании баланса ПОЛ/АОЗ и необходима для под-

держания уровня антиоксидантов в межклеточной среде. При этом избыточное подавление изученных в настоящем исследовании ключевых компонентов сигнальных путей способно негативно отражаться на АОЗ, в частности, приводить к снижению уровня ТС у пациентов, перенесших ВП. В этой связи представляется целесообразным при оказании медицинской помощи таким больным избегать чрезмерного подавления иммунного ответа, в том числе за счет ограничения назначения без абсолютных к тому показаний гормонов коры надпочечников и необоснованно длительного использования антибактериальных препаратов. С учетом выявленной зависимости влияния тиоловых соединений на активацию терминальных компонентов сигнальных путей, с целью поддержания оптимальной активации биохимических процессов в ИКК, следует полагать целесообразным назначение таким больным вместе с основной терапией также водорастворимых антиоксидантов, в частности, таурина, цистеина либо тиоктовой кислоты [1, 3, 14].

Выводы

1. У реконвалесцентов ВП на фоне дефицита тиоловых соединений имеет место статистически значимое снижение уровня фосфорилирования протеинкиназы JAK2 на 26,8%, факторов STAT3 на 8,1%, STAT5 на 19,8%, STAT6 на 20,5%, JNK на 12,6%, на фоне незначимого повышения уровня фосфорилирования протеинкиназы ERK на 4,7%. Указанные изменения свидетельствуют о тесном характере взаимосвязи активности рассмотренных сигнальных путей с состоянием ПОЛ/АОЗ.
2. Регрессионный анализ показал, что тиоловый статус характеризуется положительной взаимосвязью с активностью в МНК фактора STAT5A, содержанием в клетке протеинкиназы JNK, компонента p50 ядерного фактора транскрипции NF-κB, и отрицательной — с содержанием фактора ERK и уровнем фосфорилирования STAT3. Математическая модель, связывающая уровень тиолов с состоянием молекулярных механизмов реактивности ИКК, позволяет судить о потенциальных эффектах применения антиоксидантов, а также о возможных патофизиологических проявлениях дефицита АОЗ в фазу реконвалесценции ВП, что способно облегчить прогнозирование эффективности иммунореабилитации таких пациентов.
3. Учитывая характер выявленных взаимосвязей можно сформулировать гипотезу о том, что повышение уровня тиолов способствует повышению активности транскрипционного фактора STAT5A и снижению — STAT3 с повышением чувствительности клеток к ИЛ-2, ИЛ-3, эритропоэтину и тромбопоэтину с ограничением чувствительности ИКК к провоспалительным цитокинам, в том числе ИЛ-6 и ИЛ-5, а также торможению дифференци-

ровки Т-хелперов-17. В этой связи использование водорастворимых антиоксидантов у реконвалесцентов ВП может способствовать коррекции состояния внутриклеточных механизмов сигнальной трансдукции и ускорению восстановления после перенесенной ВП.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют, что данная работа, её тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов/The authors state that this work, its theme, subject and content do not affect competing interests

Список литературы/References:

1. Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Иванов В.В., Носарева О.Л., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Окислительная модификация белков и система глутатиона в адипоцитах при сахарном диабете. Бюллетень сибирской медицины. 2014; 13(3): 84-90. Shahristova E.V., Stepovaya E.A., Ivanov V.V., Nosareva O.L., Ryazanceva N.V., Novickij V.V. Oxidative modification of proteins and glutathione system in adipocytes with diabetes mellitus. Bulletin of Siberian medicine. 2014; 13(3): 84-90. [In Russian]
2. Степовая Е.А., Жаворонок Т.В., Петина Г.В., Рязанцева Н.В., Иванов В.В., Тетенев Ф.Ф., Агеева Т.С., Новицкий В.В. Участие тиолдисульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе. Сибирский научный медицинский журнал. 2010; 30(5): 64-69. Stepovaya E.A., ZHavoronok T.V., Petina G.V., Ryazanceva N.V., Ivanov V.V., Tetenev F.F., Ageeva T.S., Novickij V.V. The participation of the thiol-disulfide system in the regulation of the oxidative modification of proteins in neutrophils under oxidative stress. Siberian Scientific Medical Journal. 2010; 30(5): 64-69. [In Russian]
3. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Саприн А.Н. Участие тио-, перокси- и глутаредоксинов в клеточных редокс-зависимых процессах. Успехи биологической химии. 2008; (48): 319-358. Kalinina E.V., Chernov N.N., Saprin A.N. Participation of thio-, peroxy- and glutaredoxins in redox-dependent cellular processes. Advances in biological chemistry. 2008; (48): 319-358. [In Russian]
4. Komaravelli N., Tian B., Ivanciuc T., Mautemps N., Brasier A.R., Garofalo R.P., Casola A. Respiratory syncytial virus infection down-regulates antioxidant enzyme expression by triggering deacetylation-proteasomal degradation of Nrf2. Free Radic Biol Med. 2015; 88 (Pt B): 391-403. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.043.
5. Громов М.С., Терехов И.В. Характеристика системного воспалительного ответа у больных внебольничной пневмонией в динамике при помощи активной СВЧ-радиометрии. Казанский медицинский журнал. 2010; 91(5): 611-614. Gromov M.S., Terekhov I.V. Characterization of the systemic inflammatory response in patients with community-acquired pneumonia over time using active microwave radiometry. Kazan Medical Journal. 2010; 91(5): 611-614. [In Russian]
6. Терехов И.В., Бондарь С.С., Хадарцев А.А. Лабораторное определение внутриклеточных факторов противовирусной защиты при внебольничной пневмонии в оценке эффектов низкоинтенсивного СВЧ-излучения. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (6): 380-384. Terekhov I.V., Bondar' S.S., Hadarcev A.A. Laboratory determination of intracellular factors of antiviral protection in community-acquired pneumonia in assessing the effects of low-intensity microwave

- radiation. *Clinical laboratory diagnosis*. 2016; 61 (6): 380-384. [In Russian]
7. Parsons Z.D., Gates K.S. Thiol-dependent recovery of catalytic activity from oxidized protein tyrosine phosphatases. *Biochemistry*. 2013; 52(37): 6412-23. doi: 10.1021/bi400451m.
 8. Linher-Melville K., Singh G. The complex roles of STAT3 and STAT5 in maintaining redox balance: Lessons from STAT-mediated xCT expression in cancer cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2017; 451: 40-52. doi: 10.1016/j.mce.2017.02.014.
 9. Bourgeois J., Gouilleux-Gruart V., Gouilleux F. Oxidative metabolism in cancer: A STAT affair? *JAK-STAT*. 2013; 2(4): e25764. doi:10.4161/jkst.25764.
 10. Van Meter M., Simon M., Tomblin G., May A., Morello T.D., Hubbard B.P., Bredbenner K., Park R., Sinclair D.A., Bohr V.A., Gorbunova V., Seluanov A. JNK Phosphorylates SIRT6 to Stimulate DNA Double-Strand Break Repair in Response to Oxidative Stress by Recruiting PARP1 to DNA Breaks. *Cell Rep*. 2016; 16(10): 2641-2650. doi: 10.1016/j.celrep.2016.08.006.
 11. Солодухин К.А., Никифоров В.С., Громов М.С., Парфенюк В.К., Бондарь С.С., Терехов И.В. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии. *Медицинская иммунология*. 2012; 14(6): 541-544. Soloduhin K.A., Nikiforov V.S., Gromov M.S., Parfenyuk V.K., Bondar' S.S., Terekhov I.V. The effect of low-intensity microwave irradiation on intracellular processes in mononuclear cells in pneumonia. *Medical Immunology*. 2012; 14(6): 541-544. [In Russian]
 12. Cholez E., Debuyscher V., Bourgeois J., Boudot C., Leprince J., Tron F., Brassart B., Regnier A., Bissac E., Pecnard E., Gouilleux F., Lassoued K., Gouilleux-Gruart V. Evidence for a protective role of the STAT5 transcription factor against oxidative stress in human leukemic pre-B cells. *Leukemia*. 2012; 26(11): 2390-2397. doi: 10.1038/leu.2012.112.
 13. Терехов И.В., Никифоров В.С., Бондарь С.С., Бондарь Н.В., Воеводин А.А. Изменение содержания компонентов IL/TOLL-сигнального пути и NF-κB в мононуклеарных клетках цельной крови под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения частотой 1 ГГц. *Гены и клетки*. 2017; 12(2): 90-96. Terekhov I.V., Nikiforov V.S., Bondar' S.S., Bondar' N.V., Voevodin A.A. The change in the content of the components of the IL/TOLL signaling pathway and NF-κB in mononuclear cells of whole blood under the influence of low-intensity electromagnetic radiation at a frequency of 1 GHz. *Genes and cells*. 2017; 12(2): 90-96. [In Russian]
 14. Hosakote Y.M., Komaravelli N., Mautemps N., Liu T., Garofalo R.P., Casola A. Antioxidant mimetics modulate oxidative stress and cellular signaling in airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 303(11): L991-1000. doi: 10.1152/ajplung.00192.2012.

Ⓐ

Статья получена/Article received 31.08.2018 г.
Принята к публикации/Adopted for publication
04.10.2018 г.

2.5. Критерии диагноза ВП

Диагноз ВП является **определенным** при наличии у больного рентгенологически подтвержденной очаговой инфильтрации легочной ткани и, по крайней мере, двух клинических признаков из числа следующих:

- а) остро возникшая лихорадка в начале заболевания ($t > 38,0^{\circ}\text{C}$);
- б) кашель с мокротой;
- в) физические признаки (фокус крепитации/мелкопузырчатых бронхиальное дыхание, укорочение перкуторного звука);
- г) лейкоцитоз $> 10 \times 10^9/\text{л}$ и/или палочкоядерный сдвиг ($> 10\%$).

При этом необходимо учитывать и вероятность терапевтической альтернативы — известных синдромосходных заболеваний/патологических состояний.

Отсутствие или недоступность рентгенологического подтверждения очаговой инфильтрации в легких делает диагноз ВП **неточным/неопределенным**. При этом диагноз заболевания основывается на учете данных эпидемиологического анамнеза, жалоб и соответствующих локальных признаков.

Если при обследовании пациента с лихорадкой, жалобами на кашель, одышку, отделение мокроты и/или боли в грудной клетке, связанные с дыханием рентгенологическое исследование органов грудной полости оказывается недоступным и отсутствует соответствующая локальная симптоматика (укорочение перкуторного пораженным участком легкого, локально выслушиваемое бронхиальное дыхание, фокус звучных мелкопузырчатых хрипов/крепитации, усиление бронхофонии и голосового дрожания), то предположение о ВП становится **маловероятным**.

Внебольничная пневмония. Клинические рекомендации 2018 г.
Российское респираторное общество. Межрегиональная ассоциация
по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
<https://docviewer.yandex.ru/view/>
<http://www.antibiotic.ru/files/pdf/2018/vp2018-project.pdf>