

## ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 612.112.95.014.2.083

Кашутин С.Л.<sup>1</sup>, Пустынная М.В.<sup>1</sup>, Гудков А.Б.<sup>1</sup>, Данилов С.И.<sup>2</sup>, Ключарева С.В.<sup>2</sup>, Пирятинская В.А.<sup>2</sup>**УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ НА МОНОЦИТАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИХ ЯДЕР**<sup>1</sup>ГБОУ ВПО "Северный государственный медицинский университет", 163000, Архангельск, Россия; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО "Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова", 195067, Санкт-Петербург, Россия

*В условиях отсутствия антигенной стимуляции в венозной крови доля промоноцитов составила 26% (20,0; 36,0), собственно моноцитов 40% (29,5; 47,0), полиморфно-ядерных моноцитов — 31% (24,5; 43,0). Молекулу L-селектина экспрессировали 42,20% моноцитов, молекулу LFA-1 — 99,72%, ICAM-1 — 88,88%, LFA-3 — 94,11%, PECAM-1 — 97,50% моноцитов. Установлена положительная корреляция между содержанием полиморфно-ядерных моноцитов и уровнем экспрессии молекул LFA-1, ICAM-1, LFA-3 и PECAM-1, что может указывать на готовность к реализации фазы скольжения, прочной адгезии и непосредственно трансмиграции в первую очередь полиморфно-ядерными моноцитами.*

**Ключевые слова:** промоноциты; моноциты; полиморфно-ядерные моноциты; молекулы адгезии.

S.L. Kashutin<sup>1</sup>, M.V. Pustinnaia<sup>1</sup>, A.B. Gudkov<sup>1</sup>, S.I. Danilov<sup>2</sup>, S.V. Klutchareva<sup>2</sup>, V.A. Piriatskaia<sup>2</sup>

THE LEVEL OF EXPRESSION OF MOLECULES OF ADHESION ON MONOCYTES DEPENDING ON MORPHOLOGICAL DIFFERENTIATION OF NUCLEI

<sup>1</sup>Northern State Medical University, 163000, Arkhangelsk, Russia;<sup>2</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 195067, St.-Petersburg, Russia

*The article demonstrates that in conditions of absence of antigen stimulation in venous blood percentage of promonocytes made up 26% (20.0; 36.0), monocytes proper — 40% (29.5; 47.0), polymorphic nuclear monocytes — 31.0% (24.5; 43.0). The molecule of L-selectin was expressed by 42.2% of monocytes; of LFA-1 — 99.72%; of ICAM-1 — 88.88%; of LFA-3 — 94.11%; of PECAM-1 — 97.50% of monocytes. The positive correlation is established between content of polymorphic nuclear monocytes and level of expression of molecules of LFA-1, ICAM-1, LFA-3, and PECAM-1. This occurrence can testify readiness to implementation of phase of sliding, solid adhesion and transmigration immediately by polymorphic nuclear monocytes primarily.*

**Key words:** promonocytes; monocytes; polymorphic nuclear monocyte; molecules of adhesion.

Как известно, система мононуклеарных фагоцитов включает монобласты, промоноциты, моноциты и макрофаги. Промоноциты, поступив в кровотоки, еще обладают способностью к пролиферации, в то время как моноциты уже обеспечивают неспецифическую защиту организма за счет своей фагоцитарной активности, а секретируемые ими молекулы выполняют эффекторные и регуляторные функции. Макрофаги постоянно созревают из циркулирующих в крови моноцитов и, покидая кровяное русло, мигрируют в различные ткани организма, принимая активное участие в раннем воспалительном ответе на инфекцию, в запуске специфического иммунного ответа, в клеточно-опосредованных реакциях [1—4].

Если миграция моноцитов в очаг воспаления исследована, то данные о миграции их в ткани в условиях отсутствия антигенной нагрузки, которой может быть инфекция, химическое или радиационное повреждение, стандартная иммунная нагрузка, единичны и разрозненны [1, 2, 5, 6]. Физиологическое осмысление процессов миграции клеток системы мононуклеарных фагоцитов, а также условий, при которых может активизироваться или замедляться данная миграция, является особенно важным для интерпретации резервов стабильности и сохранения гомеостаза.

Для корреспонденции:

Кашутин Сергей Леонидович, д-р мед. наук,  
зав. каф. кожных и венерических болезней  
Адрес: 163000, Архангельск, пр. Троицкий, 51  
E-mail: sergeycash@yandex.ru

**Материалы и методы.** Проведено обследование 50 лиц (22 мужчин и 28 женщин) в возрасте от 20 до 60 лет, не имеющих хронической патологии в анамнезе. Венозную кровь для исследования брали утром натощак. На проточном цитометре FC-500 фирмы Beckman Coulter определяли экспрессию моноцитами молекул L-селектина (CD62L), LFA-1 (CD11a), ICAM-1 (CD54), LFA-3 (CD58), PECAM-1 (CD31).

На мазке крови, зафиксированном смесью Никифорова и окрашенном по Романовскому—Гимзе, определяли концентрацию моноцитов среди других лейкоцитов: эозинофилов, базофилов, нейтрофилов, лимфоцитов. В соответствии с методом, предложенным О.П. Григоровой, проводили дифференцировку моноцитов по морфологии ядра на промоноциты, собственно моноциты и полиморфно-ядерные моноциты [7].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью SPSS 17.0 for Windows. Распределение параметров было ненормальным, в связи с чем описание выборок проводили с помощью подсчета медианы (Md) и межквартильного интервала C25C75. Вероятность различий оценивали по непараметрическому критерию Колмогорова—Смирнова. Корреляционный анализ был проведен с использованием коэффициента корреляции Спирмена.

**Результаты и обсуждение.** Общее содержание моноцитов было на уровне 4% (3,0; 8,0), что в абсолютных единицах составило  $0,35 \cdot 10^9$  клеток/л (0,22; 0,54). При этом молекулу L-селектина экспрессировали в среднем 42,20% (14,82; 60,0), или  $0,08 \cdot 10^9$  клеток/л (0,05; 0,18) моноцитов. У мужчин наблюдали тенденцию к снижению концентрации моноцитов с данной молекулой как в относительных едини-

цах — 35,59% (10,66; 56,19) против 47,22% (21,69; 60,7), так и в абсолютных —  $0,06 \cdot 10^9$  клеток/л (0,03; 0,1) против  $0,14 \cdot 10^9$  клеток/л (0,07; 0,25);  $Z = 1,36$ ;  $p = 0,04$ ). Молекулу LFA-1 экспрессировала подавляющая часть изучаемых клеток — 99,72% (92,75; 100,0) или  $0,3 \cdot 10^9$  клеток/л (0,17; 0,41) без существенных различий по полу. В среднем удельный вес моноцитов с молекулой ICAM-1 был на уровне 88,88% (61,33; 96,83) или  $0,26 \cdot 10^9$  клеток/л (0,09; 0,37). При этом у мужчин концентрация моноцитов с молекулой ICAM-1 была ниже, чем у женщин (88,56% (50,87; 95,92) против 91,5% (70,25; 98,02) или  $0,18 \cdot 10^9$  клеток/л (0,08; 0,35) против  $0,28 \cdot 10^9$  клеток/л (0,17; 0,38);  $Z = 1,01$ ;  $p = 0,25$ ). Уровень моноцитов, экспрессирующих молекулу LFA-3, составил 94,11% (77,08; 100,0) или  $0,3 \cdot 10^9$  клеток/л (0,18; 0,5) без гендерных различий. Молекулу PECAM-1 экспрессировали в среднем 97,5% (80,0; 98,75), что в абсолютных единицах составило  $0,3 \cdot 10^9$  кл/л (0,19; 0,53) моноцитов. При этом наблюдалась незначительная тенденция к снижению концентрации моноцитов с этой молекулой у мужчин (96,77% (32,08; 98,81) против 97,64% (88,01; 99,06) или  $0,29 \cdot 10^9$  клеток/л (0,06; 0,67) против  $0,34 \cdot 10^9$  клеток/л (0,26; 0,49);  $Z = 0,63$ ;  $p = 0,82$ ).

Анализ структуры моноцитогаммы показал, что удельный вес промоноцитов составил 26% (20,0; 36,0), собственно моноцитов 40% (29,5; 47,0), полиморфно-ядерных моноцитов — 31% (24,5; 43,0) без существенных гендерных различий. Следует отметить, что медианы абсолютных значений были одинаковыми:  $Md = 0,12 \cdot 10^9$  клеток/л.

Корреляционный анализ между уровнем экспрессии молекул адгезии и концентрацией моноцитов, различающихся по форме ядра, показал, что в ходе дальнейшей дифференцировки ядра моноцитов появляются новые статистически достоверные корреляции. Если содержание промоноцитов коррелировало только с уровнем экспрессии молекул LFA-1 и ICAM-1 ( $\rho = 0,39$ ;  $p = 0,005$  и  $\rho = 0,43$ ;  $p = 0,002$ ), то у собственно моноцитов появилась корреляция с молекулой LFA-3 ( $\rho = 0,38$ ;  $p = 0,03$ ), а у полиморфно-ядерных моноцитов еще и с молекулой PECAM-1 ( $\rho = 0,45$ ;  $p = 0,03$ ).

Итак, в условиях отсутствия антигенной стимуляции 42,20% моноцитов экспрессируют молекулы L-селектина, 99,72% — молекулы LFA-1, 88,88% — ICAM-1, 94,11% — LFA-3, 97,50% — PECAM-1. Как известно, L-селектин, обеспечивает роллинг-эффект, и адгезия, вызванная селектинами обратима, кратковременна и малоэффективна. Более прочную и необратимую адгезию моноцитов на эндотелии обуславливают  $\beta_2$ -интегрины, к которым относится молекула LFA-1 [1, 8]. В соответствии с результатами исследования практически все моноциты (99,72%) экспрессировали эту молекулу, что в 2 раза больше, чем удельный вес моноцитов (42,20%), экспрессирующих молекулу L-селектина. Учитывая возможность протеолитического отщепления молекулы L-селектина при экспрессии на моноцитах  $\beta_2$ -интегринов на клеточной поверхности, определяемого как шеддинг-феномен, можно полагать, что шеддинг молекул L-селектина среди моноцитов протекает достаточно активно и значительно активнее, чем у нейтрофилов [8]. С другой стороны, более низкая экспрессия молекул L-селектина на моноцитах при увеличении на них экспрессии молекулы ICAM-1 может быть связана с увеличением секреции TNF $\alpha$  и активизации цитотоксичности моноцитов [9, 10].

Уровень экспрессии молекул адгезии ICAM-1, LFA-3, PECAM-1 моноцитами периферической крови был чрезвычайно высок в сравнении с уровнем экспрессии этих молекул на нейтрофилах [8], на основании чего можно полагать, что процессы трансмиграции, особенно полиморфно-ядерных моноцитов, в условиях отсутствия какой-либо антигенной стимуляции достаточно активны. Подтверждением этому может служить наличие статистически достоверных корреляций между содержанием полиморфно-ядерных моноцитов и уровнем экспрессии молекул адгезии, участвующих на

всех этапах миграции: фазе скольжения, прочной адгезии и трансмиграции.

Таким образом, в условиях отсутствия антигенной стимуляции имеется высокий уровень экспрессии молекул адгезии на моноцитах, при этом наибольшая готовность к реализации фазы скольжения, прочной адгезии и непосредственно самой трансмиграции наблюдается у полиморфно-ядерных моноцитов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Фрейдлин И. С. *Иммунная система и ее дефекты*. СПб.: НТФФ Полисан; 1998.
2. Кошевенко Ю. Н. Механизмы клеточного иммунитета в коже. *Косметика и медицина*. 2001; 3: 15—26.
3. Цинкернагель Р. *Основы иммунологии*. М.: Мир; 2008.
4. Пальцев М.А., Иванов А.А. *Межклеточные взаимодействия*. М.: Медицина, 1995.
5. Щеголева Л.С. Иммунные реакции у взрослых — северян в условиях стандартной антигенной нагрузки. *Экология человека*. 2010; 5: 11—6.
6. Щеголева Л.С. Резервные возможности иммунного гомеостаза у человека на Севере. *Экология человека*. 2010; 10: 12—22.
7. Григорова О. П. Лимфоцитарная реакция как показатель реактивности организма в динамике инфекционного процесса. *Охрана материнства*. 1963; 10: 39—41.
8. Кашутин С.Л., Данилов С.И., Верещагина Е.Н. Уровень экспрессии молекул адгезии на нейтрофилах, в зависимости от сегментации их ядер. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 11: 45—8.
9. Soares Miguel P., Seklon Mark P., Gregoire Isabel Pombo, Vassilevskaia Tatiana, Berberat Pascal O., Yu Jia, Tsui Tung-Yu, Bach Fritz H. Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. *J. Immunol*. 2004; 6: 3553—63.
10. Zheng Fang, Shi Wen-fang, Feng Wei, Jiang Xiao-dan, Xu Yong, Fan Fang, Li Zhuo-ya. Xibao yu fenzi mianyixue zazhi. *J. Cell. Mol. Immunol*. 2004; 1: 42—4.

#### REFERENCES

1. Freydlin I.S. *The immune system and its defects*. St. Petersburg: NTFF Polisan; 1998. (in Russian)
2. Koshevenko Yu.N. Mechanisms of cellular immunity of the skin. *Kosmetika i meditsina*. 2001; 3: 15—26. (in Russian)
3. Cinkernagel' R. *Fundamentals of immunology*. Moscow: Mir; 2008. (in Russian)
4. Pal'tsev M.A., Ivanov A.A. *Intercellular interaction*. Moscow: Meditsina; 1995. (in Russian)
5. Shchegoleva L.S. Immune reactions at adults — northerners in the conditions of standard anti-gene load. *Ekologiya cheloveka*. 2010; 5: 11—6. (in Russian)
6. Shchegoleva L.S. Reserve capabilities of an immune homeostasis of a person in the north. *Ekologiya cheloveka*. 2010; 10: 12—22. (in Russian)
7. Grigorova O.P. Lymphocytic reaction as an reactivity indicator of organism in dynamics of infectious process. *Okhrana materinstva*. 1963; 10: 39—41. (in Russian)
8. Kashutin S.L., Danilov S.I., Vereshchagina E.N. The level of expression of adhesion molecules on neutrophils depending on their nuclear segmentation. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 11: 45—8. (in Russian)
9. Soares Miguel P., Seklon Mark P., Gregoire Isabel Pombo, Vassilevskaia Tatiana, Berberat Pascal O., Yu Jia, Tsui Tung-Yu, Bach Fritz H. Heme oxygenase-1 modulates the expression of adhesion molecules associated with endothelial cell activation. *J. Immunol*. 2004; 6: 3553—63.
10. Zheng Fang, Shi Wen-fang, Feng Wei, Jiang Xiao-dan, Xu Yong, Fan Fang, Li Zhuo-ya. Xibao yu fenzi mianyixue zazhi. *J. Cell. Mol. Immunol*. 2004; 1: 42—4.