

УДК 612.017:613.166.9:612.084

С.Н. Балашова, К.О. Пашинская

ВЛИЯНИЕ ФОНОВОЙ НЕЙТРОПЕНИИ НА ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ПРИ КРАТКОВРЕМЕННОМ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ

Институт физиологии природных адаптаций Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики
им. академика Н.П. Лавёрова Российской академии наук, г. Архангельск, Российская Федерация

S.N. Balashova, K.O. Pashinskaya

INFLUENCE OF BACKGROUND NEUTROPENIA ON IMMUNE REACTIONS IN PRACTICALLY HEALTHY PEOPLE WITH SHORT-TERM GENERAL COOLING

Institute of Environmental Physiology of Federal Center for Integrated Arctic Research
Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, Russian Federation

Резюме. Цель исследования — определить влияние нейтропении на иммунные реакции практически здоровых взрослых людей при кратковременном общем охлаждении. **Материалы и методы.** Проведено изучение показателей периферической венозной крови у 75 добровольцев до и после кратковременного общего охлаждения (5 минут в холодной камере при -25°C). Методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе «Evolis» (Bio-RAD, Франция) определяли концентрации адреналина и норадреналина тест-наборами производства IBL Hamburg (Германия), ирисина – BioVendor (Чехия), эндотелина-1 – Biomedica (Чехия), содержание цитокинов IL-17F и TNF- α – Bender MedSystems (Австрия). **Результаты и обсуждение.** Содержание нейтрофильных гранулоцитов ниже 2×10^9 кл/л ассоциировано со снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и повышением содержания в крови IL-17F и TNF- α . После пребывания в климатической камере в группе лиц с нейтропенией происходило дальнейшее снижение содержания нейтрофилов в крови. Реагируют на холодовой фактор клетки функционально наиболее активные и молодые, в то время как содержание старых нейтрофилов практически не меняется. После кратковременного охлаждения вне зависимости от наличия или отсутствия нейтропении регистрируется снижение уровня содержания зрелых, активированных, дифференцированных Т-клеток и натуральных киллеров, а также лимфоцитов, меченных к апоптозу. Заметная разница выявлена относительно уровня снижения активированных Т-клеток с рецептором к трансферрину (CD71+) при нейтропении. **Заключение.** Реакция на холодовое воздействие при наличии нейтропении отличается торможением реакций катехоламинов и эндотелина-1, которые участвуют в обеспечении адекватного термогенеза. В условиях нейтропении происходит ингибция уровня реакции на холод активиро-

Abstract. Aim. To determine the effect of neutropenia on the immune responses of practically healthy adults with short-term general cooling. **Materials and methods.** The study of peripheral venous blood parameters in 75 volunteers before and after short-term general cooling (5 minutes in a cold chamber at -25°C) was conducted. The concentrations of epinephrine and norepinephrine by test kits from IBL Hamburg (Germany), irisin – BioVendor (Czech Republic), endothelin-1 – Biomedica (Czech Republic), IL-17F and TNF- α – Bender MedSystems (Austria) were determined by the enzyme immunoassay on the Evolis automatic analyzer (Bio-RAD, France). **Results and discussion.** The content of neutrophilic granulocytes below 2×10^9 cells/l is associated with a decrease in the phagocytic activity of neutrophils and an increase in the blood levels of IL-17F and TNF- α . After a stay in the climatic chamber in the group of persons with neutropenia, there was a further decrease in the neutrophil count in the blood. The cells respond functionally to the cold factor, the functionally the most active and young, while the content of old neutrophils practically does not change. After a short-term cooling, regardless of the presence or absence of neutropenia, a decrease in the level of mature, activated, differentiated T cells and natural killers, as well as lymphocytes labeled for apoptosis, is recorded. A significant difference is revealed with respect to the level of decrease in activated T cells with the receptor for transferrin (CD71+) in neutropenia. **Conclusion.** Reaction to cold exposure in the presence of neutropenia is characterized by inhibition of the reactions of catecholamines and endothelin-1, which are involved in ensuring adequate thermogenesis. In conditions of neutropenia, the level of reaction to cold of activated T-lymphocytes is inhibited. The effect of neutropenia on reactive changes in the content of irisin in the blood under conditions of short-term general cooling in the climatic chamber is not established.

ванных Т-лимфоцитов. Не установлено влияния нейтропении на реактивные изменения содержания ирисина в крови при используемых в работе условиях кратковременного общего охлаждения в климатической камере.

Ключевые слова: нейтропения, адреналин, норадреналин, цитокины, эндотелин, ирисин, общее охлаждение

Keywords: neutropenia, epinephrine, norepinephrine, cytokines, endothelin, irisin, total cooling

Конфликт интересов отсутствует.

There is no conflict of interest.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Балашова Светлана Николаевна
ifpa-svetlana@mail.ru

Contact information of the author responsible for correspondence:

Svetlana N. Balashova
ifpa-svetlana@mail.ru

Дата поступления 09.04.2018

Received 09.04.2018

Образец цитирования:

Балашова С.Н., Пашинская К.О. Влияние фоновой нейтропении на иммунные реакции у практически здоровых людей при кратковременном общем охлаждении. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №2, с. 239–247, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-2-239-247

For citation:

Balashova S.N., Pashinskaya K.O. Influence of Background Neutropenia on Immune Reactions in Practically Healthy People with Short-Term General Cooling. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 2, pp. 239–247. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-2-239-247 (In Russ)

Введение

Основным неблагоприятным фактором, воздействующим на человека в условиях Арктики, является дефицит тепла. Реакции иммунной системы в ответ на общее охлаждение включают снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов крови, уровней активированных клеток и антителообразования. Под влиянием холода уменьшаются количественные и качественные показатели клеточного иммунитета с меньшим на 10–15% числом Т-хелперов и Т-супрессоров и общим снижением функциональной активности Т-лимфоцитов [1, 2]. Считается, что охлаждение вызывает дегрануляцию тканевых базофилов и отек дермы за счет действия медиаторов, что приводит к инфильтрации ткани мононуклеарами, нейтрофилами, эозинофилами и повреждению эндотелия с отложением иммунных комплексов [3]. Нейтропенические состояния широко распространены на Севере (9–17%) среди взрослых людей трудоспособного возраста, с увеличением частоты регистрации в период полярной ночи и к концу вахтового периода до 21% [4]. Хотя этиология нейтропенических состояний чрезвычайно разнообразна, исследователи выделяют три типа нейтропений: обусловленные уменьшением продукции нейтрофилов в костном мозге или нарушением выхода зрелых клеток в кровь; нейтропении,

связанные с повышенной деструкцией нейтрофилов на периферии, и перераспределительные [5]. Реакция клетки на холод опосредована наличием как терморцепторов на мембране, так и рецепторов к медиаторам холодового воздействия (катехоламины, цитокины, вазомоторные амины, глюкокортикоиды). Катехоламины, являясь медиаторами срочной адаптации, обеспечивают наиболее раннее развитие реакций, направленных на поддержание температурного гомеостаза, результатом чего является активизация окислительных процессов в тканях и повышение теплопродукции. Увеличение содержания катехоламинов на фоне нейтропении призвано обеспечивать быструю интегрированную перестройку снижения общего сопротивления сосудов, свертывания крови и мобилизации глюкозы с повышением частоты дыхания, сердечных сокращений, минутного сердечного выброса и артериального давления [6]. Снижение общего сопротивления сосудов на фоне усиления симпатического влияния происходит в результате активизации норадреналином эндотелина и ингибиции эндотелий-зависимой вазодилатации [7]. Ингибиция вазодилатации подавляет микроциркуляцию и может провоцировать изменение метаболических процессов с увеличением возможности развития окислительного стресса и снижения биодоступности оксида азота [8, 9].

Цель исследования — определить влияние нейтропении на иммунные реакции практически здоровых взрослых людей при кратковременном общем охлаждении.

Материалы и методы исследования

Проведено изучение показателей периферической венозной крови у 75 добровольцев до и сразу после нахождения в холодильной камере УШЗ-25Н (Россия) в течение 5 минут при температуре -25°C (март-апрель). Все волонтеры на момент обследования не имели хронических и/или рецидивирующих заболеваний. Обследование проводили с письменного согласия респондентов с соблюдением основных норм биомедицинской этики в соответствии с документом «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации 1964, с изменениями и дополнениями на 2008 год). Забор крови производился до и после нахождения в холодильной камере. В периферической крови определяли гемограмму на гематологическом анализаторе XS-1000i (Sysmex, Япония). В мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе, считали нейтрограмму (по методу Й. Тодорова, 1968), лимфоцитогамму (по методу И.А. Кассирского, 1970), моноцитогамму (по методу О.Н. Григоровой, 1956) и фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови. Определяли содержание фенотипов лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD23, CD10, CD71, CD25, HLADRII, CD95) методом непрямой иммунопероксидазной реакции с применением моноклональных антител (НПЦ «МедБио Спектр» и ООО «Сорбент», г. Москва). Методом иммуноферментного анализа на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Evolis» («Bio-RAD», Франция) в плазме и сыворотке периферической крови определяли концентрации адреналина и норадреналина тест-наборами производства IBL Hamburg (Германия), ирисина – BioVendor (Чехия), эндотелина-1 – Biomedica (Чехия), содержание цитокинов IL-17F и TNF- α – «Bender MedSystems» (Австрия).

Полученные результаты статистически обработаны с применением пакета компьютерной программы Statistica 6.0. Результаты исследования обработаны статистически с определением средних величин и представлены как средняя арифметическая \pm ошибка средней ($M \pm m$), достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Результаты непараметрических методов обработки представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей. Статистическая значимость различий определялась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости (p) в работе принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

До кратковременного общего охлаждения у 27 человек регистрировали нейтропению [1,79(1,15-1,49)]. Последующий анализ результатов иммунологического обследования проводили относительно только этой группы людей (таблица 1).

После пребывания в климатической камере у всех обследуемых этой группы людей происходило дальнейшее снижение содержания нейтрофилов в крови. Общее содержание лейкоцитов периферической крови после общего охлаждения снижается преимущественно за счет сегментоядерных нейтрофильных гранулоцитов, в том числе клеток с 2, 3 и 4 ядерными сегментами без существенных изменений концентрации клеток с 5 и более сегментами ядра. Таким образом, реагируют на холодовой фактор клетки, функционально наиболее активные и молодые, в то время как содержание старых нейтрофилов практически не меняется. Снижение содержания циркулирующих нейтрофилов в столь короткий период может происходить путем перераспределения клеток из циркулирующего в маргинальный пул с последующей их миграцией в ткани. Известно, что в участках неблагоприятной молекулы адгезии клеток эндотелия связывают лейкоциты и передают сигнал, необходимый для трансэндотелиальной миграции, которая регулируется взаимодействием CD47 и сигнальным регуляторным белком (SIRP α) лейкоцитов. Связывание лигандов с CD47 запускает проведение сигнала из клеток эндотелия, который способствует трансэндотелиальной миграции [10].

Миграционная обязанность является основной для гранулоцитов, поскольку и фагоцитарная, и секреторная их функции реализуются основным в тканях. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови, несмотря на фоновую нейтропению и последующее уменьшение концентрации нейтрофильных гранулоцитов, не снижалась. В этой ситуации можно говорить о том, что активизация миграции касается преимущественно клеток, обеспечивающих регуляторные реакции тканей за счет гуморальных медиаторов гранулоцитов. Известно, что по характеру функциональной активности нейтрофилы делятся на 2 группы: с фагоцитарными функциями и преимущественно регуляторными, обеспечивающими реакции превентивного воспаления [11]. Можно полагать, что в данном случае проявления миграционной активности нейтрофилов касаются клеток, инициирующих превентивные реакции защиты.

В данном исследовании не установлено изменений как в общей концентрации моноцитов, так и в структуре моноцитогаммы (таблица 1). Известно, что физиологические циклы кинетики моноцитов и гранулоцитов во многом идентичны: относительно короткие (около 8 часов) сроки циркуляции и последующей миграции в ткани, взаимосвязь циркулирующе-

го пула и депо. Различия заключаются в том, что тканевой пул моноцитов значительно, в 3,5 раза, превышает содержание тканевых нейтрофилов [12], поэтому миграционные процессы моноцитов из крови могут казаться менее интенсивными и проявляться менее выражено.

Таблица 1

Состав клеток периферической венозной крови и уровень фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов у лиц с нейтропенией и нормальным содержанием нейтрофилов до (1) и после (2) кратковременного охлаждения ($M \pm m$)

Table 1

The composition of peripheral venous blood cells and the level of phagocytic activity of neutrophilic granulocytes in persons with neutropenia and normal neutrophil count before (1) and after (2) short-term cooling ($M \pm m$)

Показатель/Index	Нейтропения/Neutropenia		Нормальное содержание нейтрофилов/Normal content of neutrophils	
	1 (n=27)	2 (n=27)	1 (n=48)	2 (n=48)
Клетки/Cells, $\times 10^9$ кл/л/cell/l				
Лейкоциты/Leukocytes	3,63 \pm 0,16	2,98 \pm 0,12***	5,26 \pm 0,18	5,25 \pm 0,21
Нейтрофилы/Neutrophils	1,73 \pm 0,07	1,41 \pm 0,06***	2,82 \pm 0,10	3,02 \pm 0,13
Палочкоядерные/Stabbed	0,11 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02	0,21 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02
Сегментоядерные/Segmented	1,61 \pm 0,07	1,31 \pm 0,06***	2,61 \pm 0,10	2,81 \pm 0,12
Нейтрофилы, 2 сегмента/ Neutrophils, 2 segments	0,61 \pm 0,04	0,45 \pm 0,03***	0,92 \pm 0,05	0,95 \pm 0,05
Нейтрофилы, 3 сегмента/ Neutrophils, 3 segments	0,66 \pm 0,03	0,58 \pm 0,03*	1,14 \pm 0,06	1,14 \pm 0,05
Нейтрофилы, 4 сегмента/ Neutrophils, 4 segments	0,28 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02*	0,47 \pm 0,03	0,53 \pm 0,04
Нейтрофилы, 5 и > сегментов/ Neutrophils, 5 и > segments	0,06 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01
Лимфоциты/Lymphocytes	1,51 \pm 0,13	1,24 \pm 0,07*	1,86 \pm 0,10	1,66 \pm 0,10#
Лимфоциты малые/ Lymphocytes small	0,92 \pm 0,09	0,85 \pm 0,05	1,10 \pm 0,07	1,06 \pm 0,07
Лимфоциты средние/ Lymphocytes medium	0,42 \pm 0,04	0,27 \pm 0,02***	0,57 \pm 0,04	0,47 \pm 0,04#
Лимфоциты большие/ Lymphocytes large	0,17 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01***	0,18 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01
Моноциты/Monocytes	0,25 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,43 \pm 0,03	0,44 \pm 0,04
Промоноциты/Promonocytes	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02
Моноциты зрелые/Monocytes mature	0,10 \pm 0,01	0,08 \pm 0,01	0,18 \pm 0,02	0,17 \pm 0,02
Полиморфоядерные моноциты/ Polymorphonuclear monocytes	0,04 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01
Эозинофилы/Eosinophils	0,13 \pm 0,03	0,10 \pm 0,03	0,13 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01
Базофилы/Basophils	0,04 \pm 0,02	0,03 \pm 0,01	0,02 \pm 0,00	0,02 \pm 0,00
Активные фагоциты/ Active phagocytes, %	55,33 \pm 2,11	57,74 \pm 2,23	64,04 \pm 1,45	60,80 \pm 1,56
Фагоцитарное число, ед/кл/ Phagocytic number, unit/cell	4,77 \pm 0,47	4,26 \pm 0,31	5,02 \pm 0,40	4,83 \pm 0,38

Примечания: * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ при сравнении 1 и 2 групп с нейтропенией

— $p < 0,05$ при сравнении 1 и 2 групп с нормальным содержанием нейтрофилов

Notes: * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ when comparing groups 1 and 2 with neutropenia

— $p < 0,05$ when comparing 1 and 2 groups with a normal neutrophil content

В эволюционном плане нейтрофилы являются более ранними клетками, обеспечивающими защитные функции и, следовательно, они могут оказывать влияние на более поздние в эволюционном плане реакции [13, 14]. Для этого у нейтрофильных гранулоцитов есть достаточное количество биологически активных

веществ и возможностей. На мембране нейтрофилов значительное количество рецепторов, позволяющих клетке осуществлять хемотаксис, адгезию, дегрануляцию, поглощение. Это рецепторы для Fc-фрагмента иммуноглобулина, компонентов комплемента (C3, C5a, CRI), интегрин, обеспечивающие взаимодей-

ствие с эндотелиальными клетками и последующую миграцию из кровеносного русла в ткани. Нейтрофилы секретируют TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 и колониестимулирующие факторы [15, 16]. Влияние нейтрофилов на общее содержание лимфоцитов в периферической крови возможно посредством ростовых факторов, простагландинов, вазомоторных аминов и активизации системы комплемента [17]. Нейтрофилы являются основным источником важнейшего раннего медиатора превентивной реакции воспаления, которого в 20 раз больше в гранулоцитах, чем в лимфоцитах [18]. Представляло интерес сравнение уровня и качества реакций адаптивного иммунитета у лиц с низким содержанием нейтрофилов.

После кратковременного охлаждения вне зависимости от наличия или отсутствия нейтропении регистри-

руется снижение уровня содержания зрелых CD3+, активированных CD25+, CD71+, HLADRII, CD10+, дифференцированных Т-клеток и натуральных киллеров CD16+, а также лимфоцитов, меченных к апоптозу CD95+ (таблица 2). Существенных различий в уровнях снижения содержания дифференцированных Т-лимфоцитов при нейтропении и ее отсутствии не установлено; заметная разница выявлена относительно уровня снижения активированных Т-клеток с рецептором к трансферрину (CD71+). Известно, что активизация Т-клеток экспрессией гена трансферрина является наиболее ранней и предшествует продукции IL-2 [19]. Содержание В-лимфоцитов после пребывания в климатической камере не менялось вне зависимости от наличия нейтропении или её отсутствия.

Таблица 2

Состав фенотипов лимфоцитов периферической венозной крови у лиц с нейтропенией и нормальным содержанием нейтрофилов до (1) и после (2) кратковременного охлаждения (M \pm m)

Table 2

Composition of phenotypes of peripheral venous blood lymphocytes in persons with neutropenia and normal neutrophil count before (1) and after (2) short-term cooling (M \pm m)

Показатель/Index, $\times 10^9$ кл/л/cell/l	Нейтропения/Neutropenia		Нормальное содержание нейтрофилов/ Normal content of neutrophils	
	1 (n=27)	2 (n=27)	1 (n=48)	2 (n=48)
CD3+	0,59 \pm 0,04	0,39 \pm 0,02***	0,77 \pm 0,03	0,51 \pm 0,03###
CD4+	0,32 \pm 0,03	0,20 \pm 0,02***	0,40 \pm 0,03	0,26 \pm 0,02###
CD8+	0,30 \pm 0,03	0,19 \pm 0,02***	0,36 \pm 0,03	0,24 \pm 0,02###
CD25+	0,29 \pm 0,03	0,21 \pm 0,02**	0,38 \pm 0,03	0,31 \pm 0,02##
HLADR+	0,28 \pm 0,03	0,21 \pm 0,02*	0,38 \pm 0,02	0,32 \pm 0,02#
CD71+	0,33 \pm 0,03	0,20 \pm 0,02***	0,35 \pm 0,02	0,27 \pm 0,02##
CD10+	0,28 \pm 0,03	0,18 \pm 0,02***	0,31 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03###
CD16+	0,26 \pm 0,03	0,17 \pm 0,02**	0,30 \pm 0,03	0,23 \pm 0,04##
CD23+	0,24 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02	0,31 \pm 0,04	0,24 \pm 0,05
CD95+	0,21 \pm 0,02	0,15 \pm 0,01**	0,28 \pm 0,04	0,18 \pm 0,03##

Примечания: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ при сравнении 1 и 2 групп с нейтропенией

— $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ при сравнении 1 и 2 групп с нормальным содержанием нейтрофилов

Notes: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ when comparing groups 1 and 2 with neutropenia

— $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$, ### — $p < 0,001$ when comparing 1 and 2 groups with a normal neutrophil content

В структуре лимфоцитограммы (таблица 1) на миграционную активность снижается содержание средних и больших лимфоцитов на фоне нейтропении, и только средних лимфоцитов при нормальном содержании нейтрофилов в крови. Эти результаты косвенным образом подтверждают мнение о том, что нейтропения в некоторой степени снижает уровень реакции активированных лимфоцитов на холодовой фактор. Лимфоциты периферической крови здоровых людей по размерам диаметра делят на 4 группы: малые (обычно темные) лимфоциты размерами 6–8 мкм занимают 12,12 \pm 1,14%, самую малочисленную группу (0,93 \pm 0,15%) составляют лимфоциты, большие лимфоциты более 12 мкм в диаметре составляют

11,7 \pm 1,3%, лимфоциты средних размеров 8–12 мкм в диаметре — 76,25 \pm 1,66% [20].

Срочная системная адаптация человека к любому неблагоприятному воздействию включает реакцию катехоламинов, обеспечивающих активизацию системы кровообращения с усилением силы и частоты сердечных сокращений, тонуса сосудов. В случае воздействия холода на организм человека происходит снижение скорости кровотока по месту контакта с холодом, активация симпатической нервной системы и ее нейромедиаторов норадреналина и адреналина [21, 22]. На фоне нейтропении содержание норадреналина снижается с 289,56 \pm 52,28 до 198,92 \pm 31,75 пг/мл, без значимых изменений со стороны концен-

траций адреналина ($73,56 \pm 24,12$ и $64,35 \pm 23,55$ пг/мл соответственно). У лиц с нормальным содержанием нейтрофилов в крови статистически значимых изменений концентрации норадреналина и адреналина не установлено ($204,17 \pm 48,12$ и $215,91 \pm 56,30$ пг/мл, $44,74 \pm 9,98$ и $63,35 \pm 15,87$ пг/мл). Известно, что катехоламины, и, в частности, норадреналин, обладают калоригенными свойствами, сокращение их концентрации на периферии может свидетельствовать об увеличении их расходования на повышение метаболизма клеток [23, 24]. Следовательно, на фоне нейтропении снижается эффективность катехоламиновой реакции на холодный фактор.

IL-17F в комплексе с TNF- α стимулируют миграцию и хемотаксис гранулоцитов, а также увеличивает выживаемость нейтрофилов путем активизации эндотелия и производства GM-CSF [25, 26]. Содержание этих цитокинов до воздействия холодного фактора несколько выше у лиц с нейтропенией ($64,14 \pm 31,47$ и $6,19 \pm 3,69$ пг/мл против $44,80 \pm 12,16$ и $0,91 \pm 0,18$ пг/мл). Имеются сведения, что основными продуцентами цитокинов являются самые многочисленные ядросодержащие клетки крови – нейтрофилы, поэтому они способны модулировать функциональную активность моноцитов и лимфоцитов [27, 28]. Следовательно, можно полагать, что снижение содержания нейтрофильных гранулоцитов ассоциировано с повышением их цитокиновой продукции. После кратковременного охлаждения при нейтропении установлены снижения в концентрации цитокинов IL-17F (с $64,14 \pm 31,47$ до $36,72 \pm 14,51$ пг/мл) и TNF- α (с $6,19 \pm 3,69$ до $2,09 \pm 0,46$ пг/мл). Повышение содержания данных цитокинов регистрируется только у $23,81 \pm 2,31$ и $29,63 \pm 2,01\%$, а снижение их концентраций установлено у $33,33 \pm 2,74$ и $37,04 \pm 2,24\%$ людей. У лиц с нормальным содержанием нейтрофилов в крови после нахождения в климатической камере среднее содержание IL-17F и TNF- α статистически значимо нарастает фактически в 2 раза (с $44,80 \pm 12,16$ до $90,17 \pm 32,71$ пг/мл и с $0,91 \pm 0,18$ до $2,01 \pm 0,49$ пг/мл); случаи снижения их концентраций выявлены в $17,65 \pm 2,46$ и $25,00 \pm 1,24\%$. Таким образом, наличие нейтропении обуславливает низкий уровень цитокиновой реакции на холодный фактор, в частности, реакции со стороны IL-17F и TNF- α .

Подобная закономерность установлена относительно изменения содержания эндотелина-1: после воздействия холодного фактора средние концентрации эндотелина-1 у лиц с наличием нейтропении до посещения холодной камеры ниже ($1,01 \pm 0,29$ и $0,77 \pm 0,15$ fmol/ml), частота реакции со стороны эндотелина-1 на фоне нейтропении составила $29,63 \pm 2,01\%$; при нормальном уровне содержания нейтрофилов она практически не отличалась — $21,73 \pm 1,00\%$ при средних значениях $0,96 \pm 0,19$ и $0,72 \pm 0,14$ fmol/ml. Итак, ней-

тропения заметно снижает активность реакции эндотелина на холодный фактор.

Известен факт повышения несократительного термогенеза под влиянием ирисина. Ирисин является продуктом протеолитического распада белка, кодируемого геном FNDC5 (fibronectin type III domain containing 5). FNDC5 активирует превращение белых адипоцитов в бело-бурые, повышая экспрессию неконъюгированного протеина UCP1, обеспечивающего термогенез в бурых адипоцитах [29]. В работе Ferrante C. et al, 2016 показано, что повышение уровня ирисина индуцирует увеличение содержания норадреналина в плазме крови [30]. Нейтропения до влияния холодного фактора не оказывает существенного влияния на реакцию со стороны ирисина в используемых в работе условиях; в средних результатах содержание ирисина после пребывания в холодной камере не имеет статистически значимых различий ($6,76 \pm 1,12$ и $4,82 \pm 0,56$ мкг/мл; $4,19 \pm 0,64$ и $3,36 \pm 0,42$ мкг/мл); и при нейтропении, и при её отсутствии частота реакций со стороны изменения содержания ирисина после влияния холодного фактора фактически одинакова ($22,22 \pm 1,74$ и $19,56 \pm 0,96\%$).

Заключение

Содержание нейтрофильных гранулоцитов ниже 2×10^9 кл/л ассоциировано со снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и повышением содержания в крови IL-17F и TNF- α . IL-17F в комплексе с TNF- α стимулирует миграцию и хемотаксис гранулоцитов, а также увеличивает выживаемость нейтрофилов путем активизации эндотелия. Увеличение содержания цитокинов выше нормы (более 20 пг/мл) обуславливает риск системного влияния.

Реакция на холодное воздействие при наличии нейтропении отличается торможением реакций катехоламинов и эндотелина-1, которые участвуют в обеспечении адекватного термогенеза. В условиях нейтропении происходит ингибция уровня реакции на холод активированных Т-лимфоцитов.

Не установлено влияния нейтропении на реактивные изменения содержания ирисина в крови при используемых в работе условиях кратковременного общего охлаждения в климатической камере.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме «Роль внеклеточного пула молекул адгезии и коротких пептидов в формировании и исходе адаптивных реакций человека на изменение светового режима» (№ государственной регистрации АААА-А17-117033010123-0).

ЛИТЕРАТУРА

1. Добродеева Л.К., Жилина Л.П. Иммунологическая реактивность, состояние здоровья населения Архангельской области. Екатеринбург: УрО РАН, 2004.
2. Хаснулин В.И. Введение в полярную медицину. Новосибирск: СО РАМН, 1998.
3. Soter N.A., Lewis R.A., Corey E.J., Austen K.F. Local effects of synthetic leukotriens (LTC₄, LTD₄, LTE₄, and LTB₄) in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1983; 80 (2):115-19.
4. Добродеева Л.К. Иммунологическое районирование. Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН, 2001.
5. Алмазов В.А., Афанасьев Б.В., Зарицкий А.Ю., Шишков А.Л. Лейкопении. Л.: Медицина, 1981.
6. Shondorf R., Wieling W. Vasoconstrictor reserve in neurally mediated syncope. *Clin. Auton. Res.* 2000; 10: 53-57.
7. Даутова А.З., Усманова С.Р., Шамратова В.Г. Особенности регуляции кислородтранспортной системы организма при различных генотипах гена ангиоконвертирующего фермента. В кн.: Материалы XXII съезда физиологического общества им. И.П.Павлова. Москва-Волгоград; 2013: 143-4.
8. Marchioli R., Schweiger C., Levantesi G., Tavazzi L., Valagussa F. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: epidemiological and clinical trial data. *Lipid.* 2001; 36: 53-63.
9. Madigan M., Zuckerbraun B. Therapeutic potential of the nitrite-generated NO pathway in vascular dysfunction. *Front. Immunol.* 2013; 2 (4): 174-83. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00174.
10. Azcutia V., Stefanidakis M., Tsuboi N., Mayadas T., Croce K.J., Fukida D. et al. Endothelial CD47 promotes vascular endothelial-cadherin tyrosine phosphorylation and participates in T cell recruitment at sites of inflammation in vivo. *J. Immunol.* 2012; 189 (5): 2553-62. DOI: 10.4049/jimmunol.1103606.
11. Нестерова И.В., Ковалева С.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Евлевский А.А. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты. *Иммунология.* 2012; 5: 281-7.
12. Meuret G. Hoffman G. Monocyte kinetic studies in normal and disease states // *Brit. J. Haematol.* 1973; 24: 275-9.
13. Megiovanni A.M. Sanchez F., Robledo-Sarmiento M., Morel C., Gluckman J.C., Boudaly S. Polymorphonuclear neutrophils deliver activation signals and antigenic molecules to dendritic cells: a new link between leukocytes upstream of T lymphocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 79: 977-88.
14. Butcher S.K., Chahal H., Nayak L., Sinclair A., Henriquez N. V., Sapey E. et al. Senescence in innate immune responses: reduced neutrophil phagocytic capacity and CD16 expression in elderly humans. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 70: 881-6.

REFERENCES

1. Dobrodeeva L.K., Zhilina L.P. Immunological reactivity, health status of the population of the Arkhangelsk region [Immunologicheskaya reaktivnost', sostoyaniye zdorov'ya naseleniya Arkhangel'skoy oblasti.]. Ekaterinburg: UrO RAN, 2004, (In Russ)
2. Khasnulin V.I. Introduction to Polar Medicine [Vvedeniye v polyarnuyu meditsinu]. Novosibirsk: SO RAMN, 1998, (In Russ)
3. Soter N.A., Lewis R.A., Corey E.J., Austen K.F. Local effects of synthetic leukotriens (LTC₄, LTD₄, LTE₄, and LTB₄) in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 1983. no 80 (2). pp. 115-19.
4. Dobrodeeva L.K. Immunological zoning [Immunologicheskoe rajonirovanie]. Syktyvkar: Komi NTS UrO RAN, 2001, (In Russ)
5. Almazov V.A., Afanasyev B.V., Zaritsky A.Yu., Shishkov A.L. Leukopenia [Leykopenii]. L.: Meditsina, 1981, (In Russ)
6. Shondorf R., Wieling W. Vasoconstrictor reserve in neurally mediated syncope. *Clin. Auton. Res.* 2000. no 10. pp. 53-57.
7. Dautova A.Z., Usmanova S.R., Shamratova V.G. Features of the regulation of the oxygen transport system of the organism for various genotypes of the gene of the angioconverting enzyme [Osobennosti regulyatsii kislorodtransportnoy sistemy organizma pri razlichnykh genotipakh gena angiokonvertiruyushchego fermenta]. In: Materials of the XXII Congress of the Physiological Society. I.P. Pavlova [V kn.: Materialy XXII s'yezda fiziologicheskogo obshchestva im. I.P.Pavlova]. Moscow-Volgograd, 2013; 143-4, (In Russ)
8. Marchioli R., Schweiger C., Levantesi G., Tavazzi L., Valagussa F. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: epidemiological and clinical trial data. *Lipid.* 2001. no 36. pp. 53-63.
9. Madigan M., Zuckerbraun B. Therapeutic potential of the nitrite-generated NO pathway in vascular dysfunction. *Front. Immunol.* 2013. no 2 (4). pp. 174-83. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00174.
10. Azcutia V., Stefanidakis M., Tsuboi N., Mayadas T., Croce K.J., Fukida D. et al. Endothelial CD47 promotes vascular endothelial-cadherin tyrosine phosphorylation and participates in T cell recruitment at sites of inflammation in vivo. *J. Immunol.* 2012. no 189 (5). pp. 2553-62. DOI: 10.4049/jimmunol.1103606.
11. Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Chudilova G.A., Lomatidze L.V., Yevlevsky A.A. The dual role of neutrophilic granulocytes in the implementation of antitumor protection [Dvoystvennaya rol' neytrofil'nykh granulotsitov v realizatsii protivopukholevoy zashchity]. *Immunology [Immunologiya]*. 2012. no 5. pp. 281-7, (In Russ)
12. Meuret G. Hoffman G. Monocyte kinetic studies in normal and disease states // *Brit. J. Haematol.* 1973. no 24. pp. 275-9.

15. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: УрО РАН, 2001.
16. Козинец Г.И. Физиологические системы организма человека, основные показатели. М.: Триада-Х, 2000.
17. Holden N.J., Williams J.M., Morgan M.D, Challa A., Gordon J.; Pepper R.J. et al. ANCA-stimulated neutrophils release BlyS and promote B cell survival: a clinically relevant cellular process. *Ann. Rheum. Diseases*. 2011; 70: 2229-33.
18. Chen Y., Wu H., Winnall W., Loveland K.L., Makanji Y., Phillips D.J. et al. Tumor necrosis factor-alpha stimulates human neutrophils to release preformed activin A. *Immunol. and Cell Biol.* 2011; 89: 889-96. DOI:10.1038/icb.2011.12
19. Los M., Schenk H., Hexel K., Baeuerle P.A., Droge W., Schulze-Osthoff K. IL-2 gene expression and NF-kB activation through CD28 requires reactive oxygen production by 5-lipoxygenase. *EMBO J.* 1995; 14: 3731-40.
20. Козинец Г.И., Терентьева Г.И., Файнштейн Ф.Э., Шишконово Э.Г., Лульцина С.М., Ярустовская Л.Э. и др. Морфологическая и функциональная характеристика клеток костного мозга и крови. В кн.: Нормальное кроветворение и его регуляция. М.: Медицина; 1976: 98-155.
21. Стабровский Е.М. Роль серотонинергических структур гипоталамуса в регуляции функции эндокринных органов при холодовом стрессе. *Криобиология*. 1987; 3: 41-4.
22. Ананьева О.В., Ананьев В.Н. Фармакокинетика и фармакодинамика адреналина и норадреналина при их действии на периферические артерии при различных периодах адаптации к холоду. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 3. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26496>
23. Kozyreva T.V., Tkachenko E.Ya., Eliseeva L.S., Kozaruk V.P., Polyakova E.V. A possible mechanism for noradrenaline involvement in the effector responses to cold exposure. *J. Thermal Biology*. 2001; 26 (4-5):505-12.
24. Guimaraes S., Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol. Rev.* 2001; 53 (2): 319-56.
25. Roussel L., Houle F., Chan C. Yao Y., Berube J., Olivenstein R. et al. IL-17 promotes p38 MAPK-dependent endothelial activation enhancing neutrophil recruitment to sites of inflammation. *J. Immunol.* 2010; 184: 4531-37. DOI: 10.4049/jimmunol.0903162
26. Laan M., Prause O., Miyamoto M., Sjöstrand M., Hytönen A.M., Kaneko T et al. A role of GM-CSF in the accumulation of neutrophils in the airways caused by IL-17 and TNF-alpha. *Eur. Respir. J.* 2003; 21: 387-93.
27. Cascao R., Rosario H.S., Fonseca J.E. Neutrophils: warriors and commanders in immune mediated inflammatory diseases. *Acta reumatol. port.* 2009; 34: 313-26.
28. Нехаев С.Г., Григорьев С.Г. Полиморфноядерные
13. Megiovanni A.M. Sanchez F., Robledo-Sarmiento M., Morel C., Gluckman J.C., Boudaly S. Polymorphonuclear neutrophils deliver activation signals and antigenic molecules to dendritic cells: a new link between leukocytes upstream of T lymphocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2006. no 79. pp. 977-88.
14. Butcher S.K., Chahal H., Nayak L., Sinclair A.; Henriquez N. V., Sapey E. et al. Senescence in innate immune responses: reduced neutrophil phagocytic capacity and CD16 expression in elderly humans. *J. Leukoc. Biol.* 2001. no 70. pp. 881-6.
15. Dolgushin I.I., Bukharin O.V. Neutrophils and homeostasis [Нейтрофилы и гомеостаз]. Екатеринбург: УрО РАН, 2001, (In Russ)
16. Kozinets G.I. Physiological systems of the human body, basic indicators [Физиологические системы организма человека, основные показатели]. М.: Триада-Х, 2000, (In Russ)
17. Holden N.J., Williams J.M., Morgan M.D, Challa A., Gordon J.; Pepper R.J. et al. ANCA-stimulated neutrophils release BlyS and promote B cell survival: a clinically relevant cellular process. *Ann. Rheum. Diseases*. 2011. no 70. pp. 2229-33.
18. Chen Y., Wu H., Winnall W., Loveland K.L., Makanji Y., Phillips D.J. et al. Tumor necrosis factor-alpha stimulates human neutrophils to release preformed activin A. *Immunol. and Cell Biol.* 2011. no 89. pp. 889-96. DOI:10.1038/icb.2011.12
19. Los M., Schenk H., Hexel K., Baeuerle P.A., Droge W., Schulze-Osthoff K. IL-2 gene expression and NF-kB activation through CD28 requires reactive oxygen production by 5-lipoxygenase. *EMBO J.* 1995. no 14. pp. 3731-40.
20. Kozinets G.I., Terentyeva G.I., Feinstein F.E, Shishkonovo E.G, Luhtina S.M, Yarustovskaya L.E Morphological and functional characteristics of bone marrow and blood cells. In: Normal hematopoiesis and its regulation [Морфологическая и функциональная характеристика клеток костного мозга и крови. В кн.: Нормальное кроветворение и его регуляция]. М.: Медицина; 1976: 98-155, (In Russ)
21. Stabrovsky E.M. The role of serotonergic structures of the hypothalamus in regulating the function of endocrine organs in cold stress [Роль серотонинергических структур гипоталамуса в регуляции функции эндокринных органов при холодовом стрессе]. *Cryobiology [Криобиология]*. 1987. no 3. pp. 41-4, (In Russ)
22. Ananyeva O.V., Ananiev V.N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of epinephrine and norepinephrine with their action on peripheral arteries at different periods of adaptation to the cold [Фармакокинетика и фармакодинамика адреналина и норадреналина при их действии на периферические артерии при различных периодах адаптации к холоду]. *Modern problems of science and education [Современные проблемы науки*

- лейкоциты как система антиэндотоксикационной защиты организма. Иммунология. 2010; 31 (3): 116-18.
29. Boström P., Wu J., Jedrychowski M.P., Korde A., Ye L., Lo J.C. et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012; 481:463-8. DOI: 10.1038/nature10777.
30. Ferrante C., Orlando G., Recinella L., Leone S., Chiavaroli A., Di Nisio C. et al. Central inhibitory effects on feeding induced by the adipo-myokine irisin. *European journal of pharmacology*. 2016; 791: 389-94. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.09.011.
- i obrazovaniya]. 2017; 3. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26496>, (In Russ)
23. Kozyreva T.V., Tkachenko E.Ya., Eliseeva L.S., Kozaruk V.P., Polyakova E.V. A possible mechanism for noradrenaline involvement in the effector responses to cold exposure. *J. Thermal Biology*. 2001. no 26 (4-5). pp. 505-12.
24. Guimaraes S., Moura D. Vascular adrenoceptors: an update. *Pharmacol. Rev.* 2001. no 53 (2). pp. 319-56.
25. Roussel L., Houle F., Chan C. Yao Y., Berube J., Olivenstein R. et al. IL-17 promotes p38 MAPK-dependent endothelial activation enhancing neutrophil recruitment to sites of inflammation. *J. Immunol.* 2010. no 184. pp. 4531-37. DOI: 10.4049/jimmunol.0903162
26. Laan M., Prause O., Miyamoto M., Sjöstrand M., Hytönen A.M., Kaneko T et al. A role of GM-CSF in the accumulation of neutrophils in the airways caused by IL-17 and TNF-alpha. *Eur. Respir. J.* 2003. no 21. pp. 387-93.
27. Cascao R., Rosario H.S., Fonseca J.E. Neutrophils: warriors and commanders in immune mediated inflammatory diseases. *Acta reumatol. port.* 2009. no 34. pp. 313-26.
28. Nekhaev SG, Grigoriev SG Polymorphonuclear leukocytes as a system of antitendotoxic protection of the body [Polimorfnoyadernnyye leykotsity kak sistema antiendotoksikatsionnoy zashchity organizma]. *Immunology [Immunologiya]*. 2010. no 31 (3). pp. 116-18, (In Russ)
29. Boström P., Wu J., Jedrychowski M.P., Korde A., Ye L., Lo J.C. et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012. no 481. pp. 463-8. DOI: 10.1038/nature10777.
30. Ferrante C., Orlando G., Recinella L., Leone S., Chiavaroli A., Di Nisio C. et al. Central inhibitory effects on feeding induced by the adipo-myokine irisin. *European journal of pharmacology*. 2016. no 791. pp. 389-94. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.09.011.

Авторы

Балашова Светлана Николаевна

к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляторных механизмов иммунитета
ifpa-svetlana@mail.ru

Пашинская Ксения Олеговна

Аспирант лаборатории регуляторных механизмов иммунитета
nefksu@mail.ruИнститут физиологии природных адаптаций Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики им. акад. Н.П. Лавёрова РАН
Российская Федерация, 163001, г. Архангельск, пр. Ломоносова, 249**Authors**

Svetlana N. Balashova

Cand. Sci. (Bio), Senior Researcher of the Laboratory of Regulatory Mechanisms of Immunity
ifpa-svetlana@mail.ru

Ksenia O. Pashinskaya

Post-graduate student of the Laboratory of regulatory mechanisms of immunity
nefksu@mail.ruInstitute of Environmental Physiology of Federal Center for Integrated Arctic Research Russian Academy of Sciences
Russian Federation, 163001, Arkhangelsk, Lomonosov ave., 249