

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ МАР-КИНАЗ JNK И P38 В МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Часовских Н.Ю., Рязанцева Н.В., Кайгородова Е.В.,
Чечина О.Е., Соколов Е.Г., Новицкий В.В.

ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», кафедра фундаментальных основ клинической медицины, кафедра патофизиологии, кафедра госпитальной хирургии, г. Томск

Резюме. Проведено исследование программированной гибели мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных острыми воспалительными заболеваниями (внебольничная пневмония, острый аппендицит) в условиях культивирования с ингибиторами JNK (SP600125) и p38 MAPK (ML3403). Действие ингибиторов SP600125 и ML3403 *in vitro* в условиях окислительного стресса предотвращает увеличение количества аннексин-положительных клеток, что свидетельствует о вовлечении JNK и p38 MAP-киназ в механизмы окислительной дисрегуляции апоптоза. Выявлена роль JNK киназы в продукции IL-8 мононуклеарными лейкоцитами при остром воспалении. Регуляторное влияние MAP-киназ JNK и p38 может быть опосредовано активацией редокс-чувствительных апоптогенных систем сигнальной трансдукции, а также изменением цитокинпродуцирующей функции клеток.

Ключевые слова: воспаление, апоптоз, MAP-киназы, IL-8, IL-10.

Chasovskikh N.Y., Ryazantseva N.V., Kaigorodova E.V., Chechina O.E., Sokolovich E.G., Novitskii V.V.

STATE OF JNK AND P38 MAP-KINASE SYSTEM IN BLOOD MONONUCLEAR LEUCOCYTES DURING INFLAMMATION

Abstract. Programmed cell death of peripheral blood mononuclear leucocytes from patients with acute inflammatory diseases (non-nosocomial pneumonia, acute appendicitis) was investigated under *ex vivo* conditions, upon cultivation of the cells with selective inhibitors of JNK (SP600125) and p38 MAPK (ML3403). *In vitro* addition of SP600125 and ML3403 under oxidative stress conditions prevents increase of annexin-positive mononuclear cells numbers, thus suggesting JNK and p38 MAP-kinases to be involved into oxidative mechanisms of apoptosis deregulation. A role of JNK in IL-8 production by mononuclear leucocytes was revealed in cases of acute inflammation. Regulatory effect of JNK and p38 MAP-kinases can be mediated through activation of redox-sensitive apoptogenic signal transduction systems, as well as due to changes in cellular cytokine-producing function. (*Med. Immunol.*, vol. 11, N 6, pp 515-522)

Введение

Окислительный стресс выступает в качестве ведущего патогенетического фактора для боль-

шого числа заболеваний, являясь универсальным механизмом повреждения клеток, при котором пути генерации активных форм кислорода (АФК) являются однотипными. Отличительные особенности образования внутриклеточных АФК можно выявить только на начальных стадиях развития болезни [2]. Одним из примеров патологических процессов, характеризующихся дисбалансом окислительного метаболизма, является острое воспаление.

Адрес для переписки:

Часовских Наталья Юрьевна,
ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава
634050, г. Томск, Московский тракт, 2.
Тел./факс: (38-22) 53-33-09.
E-mail: cnil@mail.ru

Избыточная АФК-продукция в условиях воспаления стимулирует активность множества киназ, включая митоген-активируемые протеинкиназы (МАР-киназы) семейств JNK и p38. Субстратами для них служат транскрипционные факторы, фосфолипазы, другие протеинкиназы, ассоциированные с цитоскелетом белки и мембранные рецепторы [15, 26]. JNK и p38 протеинкиназы фосфорилируют белки-мишени, связанные с регуляцией программированной клеточной гибели и функционированием соответствующих факторов транскрипции. Запуск летальной программы иммунцитов изменяет соотношение их субпопуляций [20]. Показано, что при этом в Т-лимфоцитах снижается активность каталазы, Мп-супероксиддисмутазы, тиоредоксина и повышается чувствительность данных клеток к воздействию перекиси водорода и TNF [2, 10]. Данные изменения свойств иммуннокомпетентных клеток приводят к ослаблению иммунного ответа. Излишняя активация апоптотической гибели клеток может приводить к истощению защитных сил организма, в то время как ее ингибирование — к хронизации воспалительного процесса [8]. Таким образом, стресс-активируемые киназы, с одной стороны, являются неотъемлемым элементом системы регуляции летальной программы, а с другой, играют ключевую роль в процессах пролиферации и дифференцировки клеток. Однако условия и факторы, способствующие проявлению апоптогенной функции МАР-киназ (в том числе при остром воспалении), требуют детального изучения. В связи с этим целью данного исследования явилась оценка участия редокс-чувствительных МАР-киназ в регуляции программированной гибели мононуклеарных лейкоцитов при остром воспалении в клинике внутренних болезней (внебольничная пневмония и острый аппендицит). Для выяснения роли JNK и p38 в реализации программы апоптоза при остром воспалении применялся широко распространенный подход к изучению функций МАР-киназ, основанный на оценке результатов эксперимента при их избирательном блокировании.

Материалы и методы

Объектом исследования служили мононуклеарные лейкоциты крови 14 здоровых доноров (8 мужчин и 6 женщин в возрасте от 18 до 55 лет), 12 пациентов с внебольничной пневмонией и 14 больных острым аппендицитом

(13 мужчин и 13 женщин в возрасте от 18 до 55 лет). Исследование проводилось при поступлении больных в стационар, что соответствовало периоду разгара болезни (1-3 сутки от начала заболевания).

Клетки выделяли из венозной гепаринизированной крови путем центрифугирования на градиенте плотности Ficoll-Paque (1,077 г/см³) («Pharmacia», Швеция), культивировали в полной питательной среде (90% RPMI-1640 («Вектор-Бест», г. Новосибирск), 10% эмбриональная телячья сыворотка («Биолот», Санкт-Петербург), инактивированная при 56 °С в течение 30 мин, 0,3 мг/мл L-глутамин, 100 мкг/мл гентамицин, 2 мМ/мл HEPES («Flow», Великобритания)) в течение 18 часов при 37 °С и 5% CO₂. Регистрировался апоптоз в культурах клеток, инкубируемых с селективными ингибиторами JNK и p38 (SP600125 и ML3403 соответственно).

Уровень продукции АФК мононуклеарными лейкоцитами определяли с помощью красителя с заблокированной флуоресценцией — дихлорфлуоресцеинадиацетата (DCF-DA) («Sigma», США). Методом проточной цитофлуориметрии анализировали превращение DCF-DA во флуоресцирующее соединение (область зеленого спектра) в условных единицах (интенсивность свечения на клетку).

Оценку реализации апоптоза проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии с использованием FITC-меченного аннексина V («Caltag», США) и TUNEL методом («Webstain», США) согласно инструкциям фирм-производителей. В первом случае использовали свойство сродства аннексина к мембранно-связанному фосфатидилсерину, анализировали параметры зеленой флуоресценции (FITC — 530 нм) в гейтах мононуклеарных клеток; во втором — способность фермента TdT (Terminal deoxynucleotidyl Transferase) специфически распознавать 3'-ОН конец хромосомного разрыва и присоединять к нему светящийся зонд, что регистрировалось при флуоресцентном микроскопировании.

В супернатантах интактных и культивированных с ингибиторами МАР-киназ культур мононуклеарных лейкоцитов определяли содержание IL-8 и IL-10, используя метод твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией к набору («Biosource», USA) на микропланшетном фотометре Multiscan EX («ThermoLabSistems», Финляндия).

Концентрации IL-8 и IL-10 вычисляли по калибровочной кривой.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики. Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с использованием критерия Колмогорова—Смирнова. Достоверность различий средних величин оценивали с помощью непараметрических критериев Манна—Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок).

Результаты

При воспалении усиление процессов свободно-радикального окисления сопровождается увеличением выработки АФК, играющих важную роль в регуляции сигнальных систем клетки, экспрессии воспалительных медиаторов, программ выживания или гибели клетки.

Для того чтобы подтвердить факт дисбаланса окислительного метаболизма мононуклеарных лейкоцитов у больных острым воспалением, оценивали уровень внутриклеточной продукции АФК данными клетками. При этом было установлено, что содержание АФК в мононуклеарных лейкоцитах крови у пациентов с внебольничной пневмонией и у больных острым аппендицитом достоверно превышало таковое в интактной культуре клеток крови у здоровых доноров (табл. 1).

Относительное количество аннексин-положительных мононуклеарных лейкоцитов в культурах клеток у больных острым аппендицитом и пациентов с внебольничной пневмонией также превышало контрольные величины, о чем свидетельствовали результаты лазерной проточной цитофлуориметрии (табл. 1).

Отсутствие статистических различий исследованных параметров у больных острым аппендицитом и внебольничной пневмонией позволило объединить их в общую группу пациентов с острым воспалением. Факт активации апоптоза мононуклеарных лейкоцитов был подтвержден с использованием TUNEL метода (11,34 (9,45-12,45)% — при остром воспалении; 1,57 (1,11-2,36)% — в контроле).

В результате исследования программированной гибели мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с острым воспалением при добавлении в культуральную среду селективных ингибиторов JNK и p38 (SP600125 и ML3403 соответственно) было установлено, что ингибитор SP600125 снижал процент аннексин-положительных клеток в культуре мононуклеарных лейкоцитов до 3,25 (2,77-3,67)% при 10,22 (9,56-11,32)% в интактных культурах. Содержание апоптотических клеток в культуре мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с острым воспалением при культивировании *in vitro* с ML3403 также снижалось до 3,66 (2,59-4,14)% ($p < 0,05$). При этом показатель аннексин-теста в культурах мононуклеарных лейкоцитов крови у пациентов с острыми воспалительными заболеваниями в условиях инкубирования с ML3403 и SP600125 был выше контроля. Сравнительный анализ числа аннексин-положительных клеток в культурах, инкубированных с ингибитором p38 (ML3403) и ингибитором JNK (SP600125), не выявил каких-либо различий.

При оценке продукции цитокинов IL-8 и IL-10 в супернатантах интактных и культивированных с ингибиторами MAP-киназ культур мононуклеарных лейкоцитов методом иммуноферментного анализа было показано, что содержание IL-8 в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов, полученных у пациентов с острым

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И СОДЕРЖАНИЕ АПОПТОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В ОБЩЕЙ ПОПУЛЯЦИИ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ, ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ АППЕНДИЦИТОМ И ВНЕБОЛЬНИЧНОЙ ПНЕВМОНИЕЙ (Me(Q1-Q3))

Условие	Уровень АФК в клетке, усл. ед.	Количество аннексин-положительных клеток, %
Культура клеток здоровых доноров	0,22 (0,16–0,31)	1,38 (0,98–2,19)
Культура клеток больных с острым аппендицитом	0,47 (0,44–0,52)*	10,35 (9,75–10,93)*
Культура клеток пациентов с внебольничной пневмонией	0,50 (0,46–0,55)*	10,76 (8,72–11,26)*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с аналогичным показателем в культуре мононуклеарных лейкоцитов крови здоровых доноров.

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ IL-8 И IL-10 В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ MAP-КИНАЗ P38 И JNK ПРИ ОСТРОМ ВОСПАЛЕНИИ (Me (Q1-Q3))

Условия	Содержание IL-8, нг/мл	Содержание IL-10, нг/мл
Интактная культура мононуклеарных лейкоцитов у здоровых доноров	130,0 (121,5–131,4)	330,2 (220,4–353,9)
Интактная культура клеток у больных острым аппендицитом	159,0 (157,0–165,0) $p_1 < 0,001$	156,8 (90,2–268,1) $p_1 > 0,05$
Интактная культура клеток у больных внебольничной пневмонией	160,0 (159,0–163,0) $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	287,4 (184,3–287,4) $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$
Инкубирование клеток у больных острыми воспалительными заболеваниями с ингибитором p38 ML3403	151,0 (138,0–164,0) $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$	268,1 (156,8–308,1) $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$
Инкубирование клеток у больных острыми воспалительными заболеваниями с ингибитором JNK SP600125	139,5 (136,7–142,0) $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 > 0,05$	199,6 (87,4–330,2) $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$

Примечание. p_1 – достоверность различий по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе; p_2 – по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с острым аппендицитом; p_3 – по сравнению с аналогичными показателями у пациентов с внебольничной пневмонией; p_4 – по сравнению с аналогичными показателями у больных острыми воспалительными заболеваниями и ингибитором p38 ML3403.

аппендицитом и внебольничной пневмонией, превышало контрольные значения (табл. 2). При культивировании мононуклеарных лейкоцитов пациентов с острыми воспалительными заболеваниями с ингибитором JNK выявлялось значимое снижение продукции IL-8 по сравнению с интактными культурами клеток данных больных, при этом уровень IL-8 был выше контрольных значений.

Было выявлено, что продукция IL-10 в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с острым аппендицитом и внебольничной пневмонией не изменялась по сравнению с контролем. Добавление ингибиторов JNK SP600125 и p38 ML3403 в культуры клеток изменений продукции IL-10 мононуклеарными лейкоцитами не вызывало (табл. 2).

Обсуждение

Основные эффекторные молекулы воспалительной реакции – АФК, обеспечивая микробцидное, фунгицидное и цитотоксическое действие, могут влиять на жизнедеятельность всех клеток организма. Результаты проведенного исследования продемонстрировали, что острый воспали-

тельный процесс характеризуется возрастанием продукции АФК в мононуклеарных лейкоцитах крови. Данный стимул вызывает активацию MAP-киназных путей, что приводит к фосфорилированию и активации транскрипционных факторов и экспрессии многочисленных генов, кодирующих белки адаптивного ответа [7]. Установлено, что в большинстве случаев активация протеинкиназ семейств p38 и JNK связана с индукцией апоптоза [6, 11, 15, 18].

По полученным нами данным, ингибирование редокс-зависимых MAP-киназ p38 и JNK препятствует реализации запрограммированной клеточной гибели мононуклеарных лейкоцитов при остром воспалении. Этот факт может служить доказательством того, что в условиях окислительного стресса при остром воспалении MAP-киназы мононуклеарных лейкоцитов выступают в качестве проапоптогенных регуляторных молекул. Данное предположение согласуется с приводящимися в литературе сведениями о защитной роли ингибиторов p38 и JNK в случае сердечной дисфункции и апоптоза кардиомиоцитов, индуцированного ишемией [11, 18]. Так, апоптоз кардиомиоцитов, индуцированный

ишемией и доксорубицином в культуре, снижался при ингибировании p38 MAPK [27]. Gabai V.L. et al. (2000) показали, что селективное ингибирование JNK в H9c2 миоцитах блокировало апоптоз, вызванный окислительным стрессом.

При окислительном стрессе MAP-киназы опосредованно влияют на реализацию программы апоптоза, участвуя в регуляции продукции ряда цитокинов. В указанном аспекте нами было рассмотрено влияние JNK и p38 на продукцию IL-8 и IL-10 мононуклеарными лейкоцитами при остром воспалении. С одной стороны, продукция IL-8, обусловленная NF- κ B-зависимой индукцией промотора гена IL-8, может служить косвенным признаком активации данного транскрипционного фактора, предположительно участвующего в апоптозе; IL-10 интересовал нас в силу его антиапоптогенного действия. С другой стороны, данные цитокины обладают про- и противовоспалительными эффектами (IL-8 и IL-10 соответственно), что явилось для нас дополнительным основанием для проведения оценки их продукции в случае острого воспаления.

IL-8 синтезируется различными типами клеток (моноцитами, нейтрофилами, эндотелиальными клетками, митоген-стимулированными Т-лимфоцитами) и выступает в качестве провоспалительного цитокина. Основными биологическими эффектами IL-8 являются: индукция хемотаксиса нейтрофилов, эозинофилов, базофилов, моноцитов и других иммунных клеток; усиление ангиогенеза *in vivo* и *in vitro*. Повышенный уровень IL-8 ассоциируется с хроническими и острыми воспалительными состояниями [9]. Данный интерлейкин продуцируется под воздействием бактериальных эндотоксинов и цитокинов, главным образом TNF α и IL-1. Окислительный стресс также может индуцировать продукцию IL-8, активируя ядерные факторы транскрипции. Показано, что редокс-чувствительные транскрипционные факторы, такие как NF- κ B и AP-1, активируются в клетках, участвующих в воспалении, приводя к up-регуляции некоторых провоспалительных генов [19, 20].

IL-10 (фактор, ингибирующий синтез цитокинов) относится к противовоспалительным медиаторам, блокирующим эффекты лимфоцитарных и макрофагальных провоспалительных цитокинов и подавляющим функцию антигенпрезентирующих клеток. Он стимулирует в моноцитах экспрессию растворимых рецепторов TNF α (sTNF) (естественных ингибиторов TNF α) и увеличивает продукцию IL-1R антагониста (IL-1Ra), инги-

бирующего связывание IL-1 с мембранным рецептором [13, 24]. IL-10 продуцируется Th2-типа, В-лимфоцитами, моноцитами и эпителиальными клетками [3, 5, 13]. Данный цитокин способен подавлять апоптоз, в частности В-лимфоцитов и активированных Т-клеток [5, 12].

Как свидетельствует проведенное нами исследование, редокс-чувствительная киназа JNK (в отличие от p38) влияет на продукцию IL-8, что подтверждается результатами экспериментов с использованием селективного ингибитора SP600125; ингибитор p38 MAPK ML3403 не обладает таким эффектом (табл. 2).

Представленные результаты вполне согласуются с данными литературы, в соответствии с которыми ингибитор JNK SP600125 блокирует экспрессию mPDK IL-8 и уменьшает продукцию данного цитокина различными клетками (эндотелиоциты, альвеолоциты A549, бронхиальные эпителиоциты человека) [22, 25]. Показано, что для экспрессии воспалительных медиаторов — цитокинов, металлопротеиназ и адгезивных молекул — необходима активация JNK в присутствии АФК [1, 15]. Высокая концентрация АФК в месте воспаления индуцирует MAP-киназу JNK, ускоряющую активацию воспалительных медиаторов, и уничтожает посредством апоптоза клетки, утратившие способность к регуляции клеточного цикла.

Данные, характеризующие роль p38 MAP-киназы в регуляции синтеза IL-8, более противоречивы. Показано, что ингибитор p38 MAPK (SB 203580) значительно снижает продукцию данного цитокина, опосредуя свое действие через NF- κ B [16, 19]. Вместе с тем результаты исследования L.F. Li et al. [22] свидетельствуют об отсутствии изменения экспрессии и секреции IL-8 при ингибировании p38 MAPK. Предположительно, регуляция данных процессов осуществляется через активацию AP-1, NF- κ B, зависящую от JNK и NIK (NF- κ B-inducing kinase).

Помимо исследования продукции IL-8, в настоящем исследовании проводилась оценка содержания IL-10 в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов при остром воспалении. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии изменений содержания IL-10 в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов при острых воспалительных заболеваниях.

Известно, что индукторами синтеза IL-10 являются липополисахариды, TNF α , IL-1 и другие провоспалительные факторы [13]. Однако регуляторные механизмы данного явления на внутриклеточном уровне до конца не ясны.

Показано, что продукция IL-10 зависит от активации тирозинкиназ и протеинкиназы C [24], а также от участия факторов, повышающих уровень цАМФ [26]. Транскрипционные факторы Ets-1 и SP-1 связываются с промотором IL-10, активируя транскрипцию гена [13].

Для выяснения роли p38 и JNK MAP-киназ в регуляции продукции IL-10 при окислительном стрессе мы использовали их селективные ингибиторы (ML3403 и SP600125 соответственно). Оказалось, что при остром воспалении данные киназы не влияют на продукцию IL-10 мононуклеарными лейкоцитами (табл. 2). Можно предположить, что в условиях воспалительного процесса редокс-сигнальные системы не включаются в продукцию антиапоптотического IL-10, обеспечивая тем самым возможность для запуска летальной программы клеток. Вместе с тем имеются сведения о блокировании синтеза IL-10 ингибитором p38 MAPK SB202190 [23] в моноцитах человека, стимулированных липополисахаридом. Однако исследование липополисахаридиндуцированной продукции IL-10 тучными клетками показало, что ингибитор SB203580 снижал соотношение TNF α /IL-10 за счет уменьшения преобладания TNF α [13]. Подтверждение гипотезы об участии p38 MAPK в регуляции синтеза провоспалительных медиаторов (TNF α , IL-1, IL-6) было получено T. Shoji et al. [26]. По мнению A.D. Foeу et al. [13], продукция IL-10 требует наличия двух сигналов: от липополисахарида (или его физиологических эквивалентов) и от эндогенных TNF α или IL-1.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что роль киназ JNK и p38 в регуляции апоптоза и продукции клетками IL-8 и IL-10 в условиях острого воспаления весьма неоднозначна. Факт возрастания продукции IL-8 может свидетельствовать об активации в условиях воспалительного процесса JNK транскрипционных факторов (в частности, NF-kB). Последний в ряде случаев может выполнять как про-, так и антиапоптотическую функцию. Отсутствие возрастания продукции антиапоптотического цитокина IL-10 является одним из условий для активации летальной программы клеток. Кроме того, в рассмотренных условиях имеет место отчетливый дисбаланс между продукцией про- и противовоспалительных цитокинов (IL-8 и IL-10, соответственно) в пользу первых.

В целом полученные в данной работе результаты свидетельствуют об участии MAP-киназ JNK и p38 в реализации программированной гибели

мононуклеарных лейкоцитов крови при остром воспалении. Регуляторное влияние данных MAP-киназ может быть опосредовано активацией редокс-чувствительных апоптогенных систем сигнальной трансдукции, а также изменением цитокинпродуцирующей функции клеток.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 годы (ГК № 02.442.11.7276, ГК № 02.445.11.7419) при финансовой поддержке РФФИ (грант 07-04-12150).

Список литературы

1. Влаопулос С., Зумпурлис В.С. JNK: ключевой модулятор внутриклеточной сигнальной системы // Биохимия. — 2004. — Т. 69, № 8. — С. 1038-1050.
2. Зенков Н.К., Лапкин З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. — М.: Наука / Интерпериодика, 2001. — 343 с.
3. Игонин А.А., Кулес В.Г., Пальцев М.А. Сепсис: молекулярные механизмы системного воспаления в качестве модели для изучения перспективных терапевтических мишеней // Молекулярная медицина. — 2004. — № 2. — С. 3-11.
4. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Часовских Н.Ю., Старикова Е.Г., Кайгородова Е.В., Стариков Ю.В., Жукова О.Б. Модуляция апоптоза мононуклеаров в условиях окислительного стресса // Бюл. эксп. биол. и мед. — 2008. — № 3. — С. 251-254.
5. Рубцова И.Е., Лебедева И.Е. Действие моноклональных антител к интерлейкину-10 на пролиферативный ответ Т-лимфоцитов от уровня апоптоза в культурах мононуклеарных клеток пуповинной крови новорожденных // Иммунология. — 2004. — № 1. — С. 16-20.
6. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю., Кайгородова Е.В., Старикова Е.Г., Стариков Ю.В., Радзивил Т.Т. Роль митоген-активированных протеинкиназ JNK и p38 в регуляции апоптоза мононуклеаров крови в условиях окислительного стресса *in vitro* // Бюл. эксп. биол. и мед. — 2008. — № 5. — С. 505-509.
7. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Часовских Н.Ю., Кайгородова Е.В., Старикова Е.Г., Стариков Ю.В. Редокс-зависимая

регуляция апоптоза: адаптивная роль активных форм кислорода при окислительном стрессе // Рос. физ. журн. им. И.М. Сеченова. — 2008. — Т. 94, № 6. — С. 710-718.

8. Часовских Н.Ю., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Филипенко М.Л., Боярских У.А., Старикова Е.Г., Кайгородова Е.В., Стариков Ю.В., Соколов Е.Г. Белки семейства Bcl-2 участвуют в редокс-зависимой дисрегуляции апоптоза мононуклеарных лейкоцитов крови при воспалении // Иммунология. — 2009. — № 1. — С. 15-18.

9. Aydin M., Ozkok E., Ozturk O., Agachan B., Yilmaz H., Yaylim I., Kebabcioglu S., Ispir T. Relationship between interleukin-8 and the oxidant-antioxidant system in end-stage renal failure patients // Exp. Clin. Transplant. — 2007. — Vol. 5, N 1 — P. 610-613.

10. Baines C.P., Molkentin J.D. Stress signaling pathways that modulate cardiac myocyte apoptosis // J. Mol. and Cell. Cardiol. — 2005. — Vol. 38. — P. 47-62.

11. Barancik M., Htun P., Strohm C., Kilian S., Schaper W. Inhibition of the cardiac p38-MAPK pathway by SB203580 delays ischemic cell death // J. Cardiovasc. Pharmacol. — 2000. — Vol. 3. — P. 474-483.

12. Cohen S.B., Crawley J.B., Kahan M.C. Interleukin-10 rescues T cells from apoptotic cell death: association with an up-regulation of Bcl-2 // Immunology. — 1997. — Vol. 92, N 1. — P. 1-5.

13. Foey A.D., Parry S.L., Williams L.M. Regulation of monocyte IL-10 synthesis by endogenous IL-1 and TNF- α : role of the p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases // J. Immunol. — 1998. — Vol. 160, N 2. — P. 920-928.

14. Gabai V.L., Meriin A.B., Yaglom J.A., Wei J.Y., Mosser D.D., Sherman M.Y. Suppression of stress kinase JNK is involved in HSP72-mediated protection of myogenic cells from transient energy deprivation. HSP72 alleviates the stress-induced inhibition of JNK dephosphorylation // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275. — P. 38088-38094.

15. Gallo K.A., Johnson G.L. Mixed-lineage kinase control of JNK and p38 MAPK pathways // Nature Reviews Molecular Cell Biology. — 2002. — Vol. 3, N 9. — P. 663-672.

16. Harimaya A., Koizumi J.I., Fujii N., Himi T. Interleukin-8 induction via NF- κ B, p38 mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathways in human peripheral blood mononuclear cells by *Alloiococcus otitis* //

Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol. — 2007. — Vol. 9 — P. 1465-1470.

17. Hashimoto S., Matsumoto K., Gon Y., Maruoka S., Takeshita I., Hayashi S., Koura T., Kujime K., Horie T. Mitogen-activated protein kinase regulates IL-8 expression in human pulmonary vascular endothelial cells // Eur. Respir. J. — 1999. — Vol. 13. — P. 1357-1364.

18. Kang Y.J., Zhou Z.X., Wang G.W., Buridi A., Klein J.B. Suppression by metallothionein of doxorubicin-induced cardiomyocyte apoptosis through inhibition of p38 mitogen-activated protein kinases // J. Biol. Chem. — 2000 — Vol. 275. — P. 13690-13698.

19. Kim M.S., Lim W.K., Park R.K. Involvement of mitogen-activated protein kinase and NF- κ B activation in Ca^{2+} -induced IL-8 production in human mast cells // Cytokine. — 2005. — Vol. 32, N 5 — P. 226-233.

20. Klein J.A., Ackerman S.L. Oxidative stress, cell cycle, and neurodegeneration // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 111, N 6. — P. 785-793.

21. Li J., Kartha S., Iasvovskaia S., Tan A., Bhat R.K., Manaligod J.M., Page K., Brasier A.R., Hersenson M.B. Regulation of human airway epithelial cell IL-8 expression by MAP kinases // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2002. — Vol. 283. — P. L690-L699.

22. Li L.F., Ouyang B., Choukroun G. Stretch-induced IL-8 depends on c-Jun NH₂-terminal and nuclear factor- κ B-inducing kinases // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2003. — Vol. 285, N 2. — P. 464-475.

23. Lim W., Ma W., Gee K. Distinct role of p38 and c-Jun N-terminal kinases in IL-10-dependent and IL-10-independent regulation of the costimulatory molecule B7.2 in lipopolysaccharide-stimulated human monocytic cells // J. Immunol. — 2002. — Vol. 168, N 4. — P. 1759-1769.

24. Pawelec G., Hambrecht A., Rehbein A., Adibzadeh M. Interleukin-10 protects activated human T lymphocytes against growth factor withdrawal-induced cell death // Cytokine. — 1996. — Vol. 8, N 12. — P. 877-881.

25. Saatian B., Zhao Y., He D., Georas S.N. Transcriptional regulation of lysophosphatidic acid-induced interleukin-8 expression and secretion by p38 MAPK and JNK in human bronchial epithelial cells // Biochem J. — 2006. — Vol. 393, P. 3. — P. 657-668.

26. Shoji T., Yoshida S., Mitsunari M., Miyake N., Iwabe T., Harada T., Terakawa N. Involvement of

p38 MAP kinase in lipopolysaccharide-induced production of pro- and anti-inflammatory cytokines and prostaglandin E(2) in human choriodecidua // J. Reprod. Immunol. — 2007. — Vol. 75, N 2. — P. 82-90.

27. Zhu W., Zou Y., Aikawa R., Harada K., Kudoh S. MAPK superfamily plays an important

role in daunomycin-induced apoptosis of cardiac myocytes // Circulation. — 1999. — Vol. 100. — P. 2100-2107.

поступила в редакцию 04.03.2009

отправлена на доработку 09.03.2009

принята к печати 17.06.2009