Роль норадреналина в регуляции взаимодействия CD14+ моноцитов и CD4+ Т-клеток при рассеянном склерозе

CC BY 4.0

Николаева Д.В.[1], Жетишев Р.Р.[1, 2], Лопатина А.В.[1], Свиридова А.А.[1], Есипова Д.Д.[1, 3], Муругина Н.Е.[1, 3], Муругин В.В.[1, 3], Бойко А.Н.[1, 2], Мельников М.В.[1–3]

[1]ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва; [2]ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва; [3]ФГБУ Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

[1]Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1; [2]Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1, стр. 10; [3]Россия, 121374, Москва, Можайское шоссе, 14

Рассеянный склероз (РС) — аутоиммунное демиелинизирующее и нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы (ЦНС), поражающее лиц молодого возраста. Установлено, что CD14+ моноциты и Т-хелперы (CD4+ Т-клетки) играют важную роль как в развитии, так и в поддержании аутоиммунного нейровоспаления при РС. Норадреналин — один из ключевых нейротрансмиттеров ЦНС, который наряду с регуляцией нейропсихологических функций также участвует в модуляции клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа.

***Цель** исследования — изучить влияние норадреналина на индуцируемую CD14+ моноцитами активацию CD4+ Т-клеток у больных ремиттирующим РС.*

***Материал и методы.** Проведено комплексное клиническое и иммунологическое обследование 12 больных ремиттирующим РС и 12 здоровых доноров. Оценивали влияние норадреналина на продукцию CD14+ моноцитами интерлейкина 6 (ИЛ6) и ИЛ1β, которые необходимы для дифференцирования Th17-клеток, а также на активацию в CD14+ моноцитах сигнального пути PKA—CREB. Кроме того, оценивали влияние норадреналина на способность CD14+ моноцитов индуцировать продукцию ИЛ17 и интерферона γ аутологичными CD4+ Т-клетками.*

***Результаты.** Норадреналин подавлял продукцию цитокинов CD14+ моноцитами в обеих группах, а также активацию сигнального пути PKA—CREB в группе здоровых доноров. Также норадреналин подавлял способность CD14+ моноцитов индуцировать продукцию ИЛ17 аутологичными CD4+ Т-клетками в обеих группах.*

***Заключение.** Полученные предварительные данные указывают на противовоспалительный эффект норадреналина при РС, который может быть опосредован его влиянием на функции CD14+ моноцитов.*

***Ключевые слова:** норадреналин; CD14+ моноциты; CD4+ Т-клетки; цитокины; рассеянный склероз.*

Контакты:** Михаил Валерьевич Мельников; **medikms@yandex.ru

***Для цитирования:** Николаева ДВ, Жетишев РР, Лопатина АВ, Свиридова АА, Есипова ДД, Муругина НЕ, Муругин ВВ, Бойко АН, Мельников МВ. Роль норадреналина в регуляции взаимодействия CD14+ моноцитов и CD4+ Т-клеток при рассеянном склерозе. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2025;17(4):26—32. https://doi.org/10.14412/2074-2711-2025-4-26-32*

The role of noradrenaline in regulating the interaction between CD14+ monocytes and CD4+ T cells in multiple sclerosis

Nikolaeva D.V.[1], Zhetishev R.R.[1, 2], Lopatina A.V.[1], Sviridova A.A.[1], Esipova D.D.[1, 3], Murugina N.E.[1, 3], Murugin V.V.[1, 3], Boiko A.N.[1, 2], Melnikov M.V.[1–3]

[1]Federal Center for Brain and Neurotechnologies, FMBA of Russia, Moscow; [2]N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow; [3]National Research Center Institute of Immunology, FMBA of Russia, Moscow

[1]1, Ostrovityanova St., Build. 10, Moscow 117997, Russia; [2]1, Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia; [3]14, Mozhaiskoe Sh., Moscow 121374, Russia

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune demyelinating and neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS) that affects young people. It has been established that CD14+ monocytes and T-helpers (CD4+ T cells) play an important role in both the development and maintenance of autoimmune neuroinflammation in MS. Noradrenaline is one of the key neurotransmitters of the CNS, which, along with regulating neuropsychological functions, also participates in the modulation of cells of the innate and adaptive immune response.

***Objective:** to investigate the effect of noradrenaline on CD14+ monocyte-induced activation of CD4+ T cells in patients with relapsing-remitting MS.*

***Materials and methods.** A comprehensive clinical and immunological examination was conducted on 12 patients with relapsing-remitting MS and 12 healthy donors. The effect of noradrenaline on the production of interleukin 6 (IL6) and IL1β by CD14+ monocytes, which are necessary for the differentiation of Th17 cells, as well as on the activation of the PKA—CREB signalling pathway in CD14+ monocytes, was assessed. In addition, the effect of noradrenaline on the ability of CD14+ monocytes to induce the production of IL17 and interferon γ by autologous CD4+ T cells was evaluated.*

***Results.** Noradrenaline suppressed cytokine production by CD14+ monocytes in both groups, as well as activation of the PKA—CREB signalling pathway in the group of healthy donors. Noradrenaline also suppressed the ability of CD14+ monocytes to induce IL17 production by autologous CD4+ T cells in both groups.*

Conclusion. *Preliminary data indicate that noradrenaline has an anti-inflammatory effect in MS, which may be mediated by its influence on the function of CD14⁺ monocytes.*

Keywords: *noradrenaline; CD14⁺ monocytes; CD4⁺ T cells; cytokines; multiple sclerosis.*
Contact: *Mikhail Valeryevich Melnikov;* ***medikms@yandex.ru***
For citation: *Nikolaeva DV, Zhetishev RR, Lopatina AV, Sviridova AA, Esipova DD, Murugina NE, Murugin VV, Boiko AN, Melnikov MV. The role of noradrenaline in regulating the interaction between CD14⁺ monocytes and CD4⁺ T cells in multiple sclerosis. Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics. 2025;17(4):26–32 (In Russ.). https://doi.org/10.14412/2074-2711-2025-4-26-32*

Рассеянный склероз (РС) – аутоиммунное демиелинизирующее и нейродегенеративное заболевание центральной нервной системы (ЦНС). РС относится к числу наиболее значимых проблем в современной неврологии, поскольку является инвалидизирующим заболеванием и поражает лиц молодого возраста [1].

В основе патогенеза РС лежит аутоиммунное нейровоспаление, которое, с одной стороны, опосредовано мигрирующими из периферии в ЦНС через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) иммунными клетками (инфильтрирующими), сенсибилизированными к антигенам миелина, а с другой – резидентными иммунными клетками, в частности микроглией [2].

Среди инфильтрирующих клеток наибольшее внимание привлекают $CD14^+$ моноциты (классические), а также Т-хелперы ($CD4^+$ Т-клетки), в особенности Th17-клетки, обладающие высокой способностью пенетрировать ГЭБ. В частности, показано, что миграции $CD14^+$ моноцитов в ЦНС способствует экспрессия хемокинового рецептора CCR2, блокада которого оказывает как терапевтическое, так и профилактическое влияние на экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ; животная модель РС). Кроме того, $CD14^+$ моноциты продуцируют широкий спектр провоспалительных цитокинов, активирующих эндотелий, а также матриксные металлопротеиназы, повышающие проницаемость ГЭБ [2]. Сходные механизмы миграции описаны для Th17-клеток, которые также экспрессируют хемокиновые рецепторы, в частности CCR6, блокада которого также оказывает положительный эффект как на развитие, так и на течение ЭАЭ [3]. Кроме того, Th17-клетки также продуцируют провоспалительные цитокины: интерлейкин 17 (ИЛ17), ИЛ21, ИЛ22 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

Проникнув в ЦНС, $CD14^+$ моноциты запускают каскад воспалительных реакций: продукция провоспалительных цитокинов, активация $CD4^+$ Т-клеток, которые в свою очередь активируют резидентную микроглию, а также усиливают провоспалительные свойства моноцитов, создавая таким образом «порочный круг» в патогенезе РС. В связи с этим модуляция взаимодействия $CD14^+$ моноцитов и $CD4^+$ Т-клеток, в особенности в ЦНС, является важной задачей для патогенетического лечения РС [4]. В то же время важно отметить, что большинство современных высокоэффективных препаратов (моноклональные антитела – мАТ) не способны проникать через ГЭБ и не могут воздействовать на нейровоспаление *in situ* [5].

Норадреналин является одним из ключевых нейротрансмиттеров в ЦНС, наряду с регуляцией нейропсихологических функций он также участвует в модуляции клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа. Недавние исследования показали противовоспалительное влияние норадреналина на функции Th17- и Th1-клеток при РС, опосредованное β_2-адренорецепторами (β_2AR) [6], что согласуется с положительным влиянием таргетирования β_2AR на ЭАЭ [7]. В то же время влияние норадреналина на функции $CD14^+$ моноцитов при РС, а именно на их способность индуцировать продукцию цитокинов $CD4^+$ Т-клетками, не изучено.

Цель настоящего исследования – изучить влияние норадреналина на продукцию $CD14^+$ моноцитами цитокинов, необходимых для развития Th17-клеток, а также на их способность индуцировать выработку ИЛ17 и интерферона γ (ИФНγ) аутологичными $CD4^+$ Т-клетками больных ремиттирующим РС.

Материал и методы. Проведено комплексное клиническое и иммунологическое обследование 12 больных (восемь женщин и четыре мужчины) в возрасте от 27 до 49 лет с диагнозом «ремиттирующий РС» по критериям МакДональда в модификации 2017 г. [8]. Длительность заболевания на момент включения в исследование составляла от 1 года до 5 лет. Все больные получали терапию препаратом глатирамера ацетат более 9 мес. Все пациенты находились в стадии клинической ремиссии (более 6 мес). Всем пациентам проводился стандартный неврологический осмотр с оценкой по Расширенной шкале статуса инвалидизации пациента (Expanded Disability Status Scale, EDSS) [9]. На момент забора крови все исследуемые больные более 6 мес не получали лечение глюкокортикоидами или антидепрессантами. Контрольную группу составили 12 условно здоровых доноров (шесть женщин и шесть мужчин). Группы были сопоставимы по полу и возрасту. Клинико-демографические характеристики больных РС и группы здоровых доноров представлены в табл. 1.

Все больные подписали информированное согласие на участие в данном исследовании. Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБУ ФЦМН ФМБА России (протокол № 06/19-09-22).

Выделение и культивирование CD14⁺ моноцитов. Для оценки продукции цитокинов ИЛ6 и ИЛ1β $CD14^+$ моноцитами из венозной крови (взятой в утренние часы в пластиковую пробирку с гепарином) выделяли мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) путем центрифугирования на градиенте плотности фиколл-урографина («ПанЭко», Россия), трижды отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ; pH 7,3; «ПанЭко», Россия) и ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением 2 ммоль L-глутамина («ПанЭко», Россия) и 2% донорской АВ сыворотки. Затем из образцов МНК методом иммуномагнитной сепарации (негативная селекция; Miltenyi Biotec, Германия) выделяли $CD14^+$ моноциты. Согласно данным многоцветной проточной цитометрии, чистота выделения $CD14^+$ моноцитов составляла более 90%

(данные не представлены). Затем образцы $CD14^+$ моноцитов в количестве 10^5 в 200 мкл на лунку вносили в 96-луночный плоскодонный планшет (SPL Life Sciences, Республика Корея), преинкубировали с ИФНγ (1000 МЕ/мл; «Фармаклон», Россия) в течение 4 ч при +37 °С в атмосфере 5% CO_2, после чего стимулировали липополисахаридом (ЛПС; 100 нг/мл; Sigma, США) [10]. В отрицательный контроль вместо ИФНγ и ЛПС вносили эквивалентный объем культуральной среды. Далее $CD14^+$ моноциты культивировали 24 ч в CO_2-инкубаторе, после чего отбирали супернатант и замораживали при –70 °С. Для изучения влияния норадреналина на продукцию цитокинов образцы $CD14^+$ моноцитов преинкубировали с норадреналином (Sigma, США) в конечной концентрации 10 мкмоль [6].

Ко-культивирование $CD14^+$ моноцитов и $CD4^+$ Т-клеток. Для изучения способности $CD14^+$ моноцитов индуцировать продукцию ИЛ17 $CD4^+$ Т-клетками проводилось совместное культивирование в 96-луночном круглодонном планшете (SPL Life Sciences, Республика Корея) $CD14^+$ моноцитов и аутологичных $CD4^+$ Т-клеток. Для этого $CD14^+$ моноциты ($5 \cdot 10^4$ на лунку) вносили в круглодонный 96-луночный планшет и инкубировали 2 ч с ИФНγ (1000 МЕ/мл). Затем $CD14^+$ моноциты отмывали и стимулировали ЛПС в течение 2 ч, после чего вносили выделенные из образцов МНК методом иммуномагнитной сепарации (негативная селекция; Miltenyi Biotec, Германия) аутологичные $CD4^+$ Т-клетки (10^5 на лунку) и стафилококковый энтеротоксин В (SEB; 100 пг/мл; Sigma, США) и инкубировали 72 ч, после чего отбирали супернатант и замораживали при –70 °С. В качестве положительного контроля $CD4^+$ Т-клетки стимулировали анти-CD3/анти-CD28-микрочастицами (Life Technologies, США; без $CD14^+$ моноцитов). В качестве отрицательного контроля в $CD4^+$ Т-клетки вместо $CD14^+$ моноцитов и SEB вносили эквивалентный объем культуральной среды. Для оценки влияния норадреналина на способность $CD14^+$ моноцитов индуцировать продукцию ИЛ17 и ИФНγ $CD4^+$ Т-клетками $CD14^+$ моноциты преинкубировали с норадреналином (10 мкмоль), после чего стимулировали и проводили ко-культивирование с $CD4^+$ Т-клетками по вышеописанной схеме.

Иммуноферментный анализ. Уровни спонтанной и индуцированной продукции ИЛ6, ИЛ1β, ИЛ17 и ИФНγ в супернатантах клеточной культуры определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для измерения концентрации цитокинов использовали наборы фирмы Invitrogen (США). Уровни аналитов выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл) или процентах по отношению к стимулированной продукции цитокинов без норадреналина.

Вестерн-блоттинг. Поскольку сигнальный путь «аденилатциклаза – циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) – протеинкиназа А (PKA) – белок, связывающий ответный элемент (cAMP response element-binding protein, CREB)» является одним из основных путей внутриклеточной передачи сигнала от адренорецепторов, также исследовалось влияние норадреналина на активацию этого пути в $CD14^+$ моноцитах здоровых доноров. Для оценки количества каталитической субъединицы PKA (PKA C-α), транскрипционного фактора CREB и его активной фосфорилированной формы pCREB в цитоплазматической фракции применяли метод вестерн-блоттинга. Для нормализации использовали белок домашнего хозяйства β-актин. Таргетные белки (CREB, pCREB, PKA C-α и β-актин) детектировали на мембране с помощью иммунного окрашивания. Для этого использовали первичные моноклональные (специфичные к CREB, pCREB и β-актину) и поликлональные (специфичные к PKA C-α) кроличьи антитела (все от Cell Signalling Technology, США), а также вторичные мышиные, специфичные к IgG кролика моноклональные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (Jackson Immunoresearch, США). Все антитела разводили в соответствии с рекомендациями производителя. Все результаты были выражены как отношение сигнала в экспериментальном образце к сигналу в контрольном образце (уровень фосфорилирования спустя 15 мин после стимуляции ЛПС для PKA и спустя 60 мин для CREB).

Статистический анализ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы GraphPad Prism 6. Для оценки различий двух групп использовались непараметрический U-критерий Манна–Уитни или знаковый ранговый критерий Вилкоксона. Статистически значимыми различия считались при $p<0,05$.

Таблица 1. *Клинико-демографические характеристики пациентов с РС и здоровых доноров*

Table 1. *Clinical and demographic characteristics of patients with MS and healthy donors*

Показатель	Пациенты с РС (n=12)	Здоровые доноры (n=12)
Возраст, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	31 [29; 38]	30 [27; 36]
Пол, n (%):		
мужчины	4 (33)	6 (50)
женщины	8 (67)	6 (50)
Длительность РС, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	3 [2; 4,3]	–
Оценка по EDSS, баллы, Me [25-й; 75-й перцентили]	2 [1; 3]	–

Примечание. Не выявлено значимых различий между группами (U-тест Манна–Уитни).

Таблица 2. *Продукция ИЛ6 и ИЛ1β $CD14^+$ моноцитами больных РС и здоровых доноров, Me [25-й; 75-й перцентили]*

Table 2. *IL-6 and IL-1β production by $CD14^+$ monocytes of patients with MS and healthy donors, Me [25th; 75th percentile]*

Цитокин	Стимуляция	Пациенты с РС (n=12)	Здоровые доноры (n=12)
ИЛ6, пг/мл	Без стимуляции	10 551 [2385; 18 682]	10 953 [7157; 15 161]
	ЛПС	21 226 [14 927; 27 892]	23 129 [19 351; 28 241]
ИЛ1β, пг/мл	Без стимуляции	434 [128; 1289]	601 [381; 1058]
	ЛПС	3162 [1494; 8292]	4068 [3196; 5054]

Примечание. Не выявлено значимых различий между группами (U-тест Манна–Уитни).

Результаты. Согласно данным ИФА, продукция ИЛ6 и ИЛ1β нестимулированными или ИФНγ/ЛПС-стимулированными $CD14^+$ моноцитами была сопоставима у больных РС и здоровых доноров (табл. 2), что может быть связано с клиническими характеристиками пациентов с РС. В частности, все исследуемые больные находились в стадии клинической ремиссии. Кроме того, всем больным проводилось патогенетическое лечение глатирамера ацетатом. Также стоит отметить, что используемый метод стимуляции моноцитов (ИФНγ и ЛПС) значительно повышает провоспалительные свойства и придает моноцитам М1-фенотип, что, с одной стороны, в большей степени может соответствовать условиям обострения РС *in vivo*, а с другой – может нивелировать возможные исходные различия в функционировании моноцитов пациентов с РС и здоровых доноров.

Норадреналин подавлял продукцию ИЛ6 и ИЛ1β в обеих группах (рис. 1, *а, б*), не оказывая какого-либо эффекта на жизнеспособность клеток (окрашивание трипановым синим и МТТ-тест, данные не представлены).

Поскольку одним из основных путей внутриклеточной передачи сигнала от адренорецепторов является сигнальный путь «аденилатциклаза – цАМФ – PKA – CREB», было изучено влияние норадреналина на активацию этого пути в $CD14^+$ моноцитах здоровых доноров. Было установлено, что как PKA, так и CREB активировались уже спустя 15 мин после стимуляции ЛПС, а пик активности обоих белков наблюдался спустя 1 ч после стимуляции. По истечении 2 ч с момента внесения ЛПС активность PKA и CREB в стимулированных $CD14^+$ моноцитах становилась сопоставимой с таковой в спонтанных клетках.

Норадреналин значимо снижал активацию PKA в стимулированных $CD14^+$ моноцитах спустя 30 мин после стимуляции ЛПС (рис. 2, *а*). Вместе с тем уровень фосфорилированного транскрипционного фактора CREB в стимулированных $CD14^+$ моноцитах при воздействии норадреналином снижался спустя 30 мин и 1 ч после стимуляции ЛПС (рис. 2, *б*), что согласуется с влиянием норадреналина на PKA.

При изучении продукции цитокинов $CD4^+$ Т-клетками было установлено, что продукция ИЛ17 и ИФНγ $CD4^+$ Т-клетками, стимулированными аутологичными $CD14^+$ моноцитами или анти-CD3/анти-CD28 микрочастицами, также сопоставима между группами (табл. 3).

При этом норадреналин снижал индуцируемую $CD14^+$ моноцитами продукцию ИЛ17 и ИФНγ $CD4^+$ Т-клетками в обеих группах (рис. 3, *а–г*). При этом ингибирующий эффект норадреналина на способность $CD14^+$ моноцитов индуцировать продукцию цитокинов $CD4^+$ Т-клетками был сопоставим между пациентами с РС и здоровыми донорами (см. рис. 3, *а–г*).

Обсуждение. В основе иммунопатогенеза РС лежит взаимодействие клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа. Важно отметить, что такое взаимодействие происходит как на периферии, так и в ЦНС с участием резидентных иммунных клеток (микроглии). При этом опосредованное резидентными клетками нейровоспаление может до определенной степени протекать автономно и быть независимым от инфильтрирующих иммунных клеток. Учитывая неспособность мАТ проникать в ЦНС через ГЭБ, поиск потенциальных механизмов, позволяющих воздействовать на нейровоспаление *in situ*, является одним из ключевых направлений в изучении иммунопатогенеза РС и разработке новых методов терапии. В этом контексте катехоламины, включающие дофамин, норадреналин и адреналин, привлекают наибольшее внимание, поскольку наряду с регуляцией нейропсихологических функций также оказывают эффект на иммунную систему и, таким образом, являются прямыми медиаторами нейроиммунного взаимодействия.

Недавние исследования показали участие норадреналина и β_2AR в иммунорегуляции при ЭАЭ. В то же время

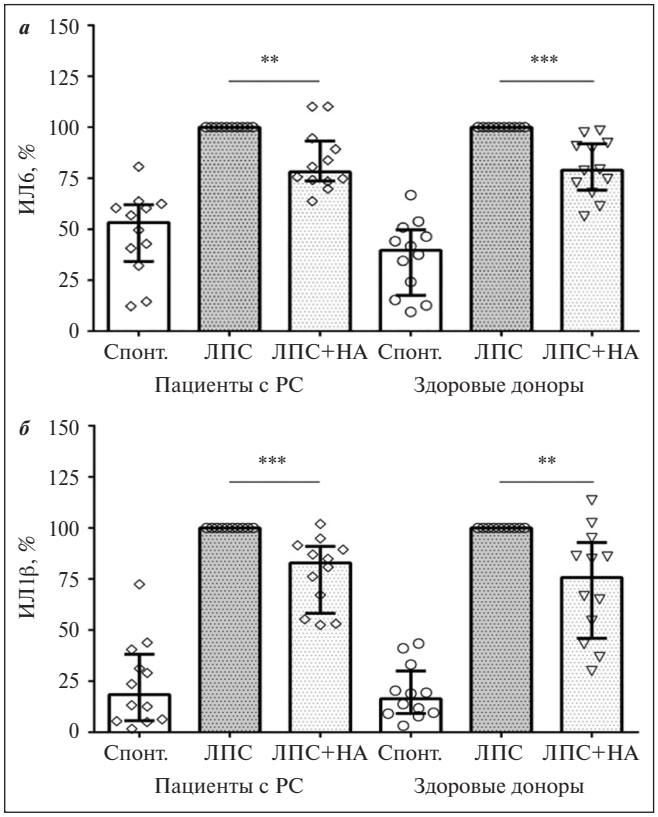

Рис. 1. *Влияние норадреналина (НА) на продукцию цитокинов $CD14^+$ моноцитами больных РС и здоровых доноров in vitro. $CD14^+$ моноциты (в количестве 10^5 в 200 мкл на лунку), полученные от пациентов с РС или здоровых доноров, преинкубировали с НА в конечной концентрации 10 мкмоль, после чего стимулировали ИФНγ и ЛПС. После 24-часовой инкубации в CO_2-инкубаторе в супернатантах клеточной культуры определяли уровни спонтанной и стимулированной продукции ИЛ6 (а) и ИЛ1β (б) методом ИФА. Данные представлены в виде Me [25-го; 75-го перцентилей], символы обозначают значения, полученные от каждого пациента с РС или здорового донора. * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001*

Fig. 1. *The effect of noradrenaline (NA) on cytokine production by $CD14^+$ monocytes from MS patients and healthy donors in vitro. $CD14^+$ monocytes (10^5 cells per 200 μl/well) obtained from MS patients or healthy donors were pre-incubated with NA at a final concentration of 10 μM, followed by stimulation with IFNγ and lipopolysaccharide (LPS). After 24 hours of incubation in a CO_2 incubator, the levels of spontaneous and stimulated production of IL-6 (a) and IL-1β (b) were determined in the cell culture supernatants by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The data are presented as Me [25th; 75th percentiles], the symbols denote the values obtained from each patient with MS or healthy donor. * – p<0.05; ** – p<0.01; *** – p<0.001*

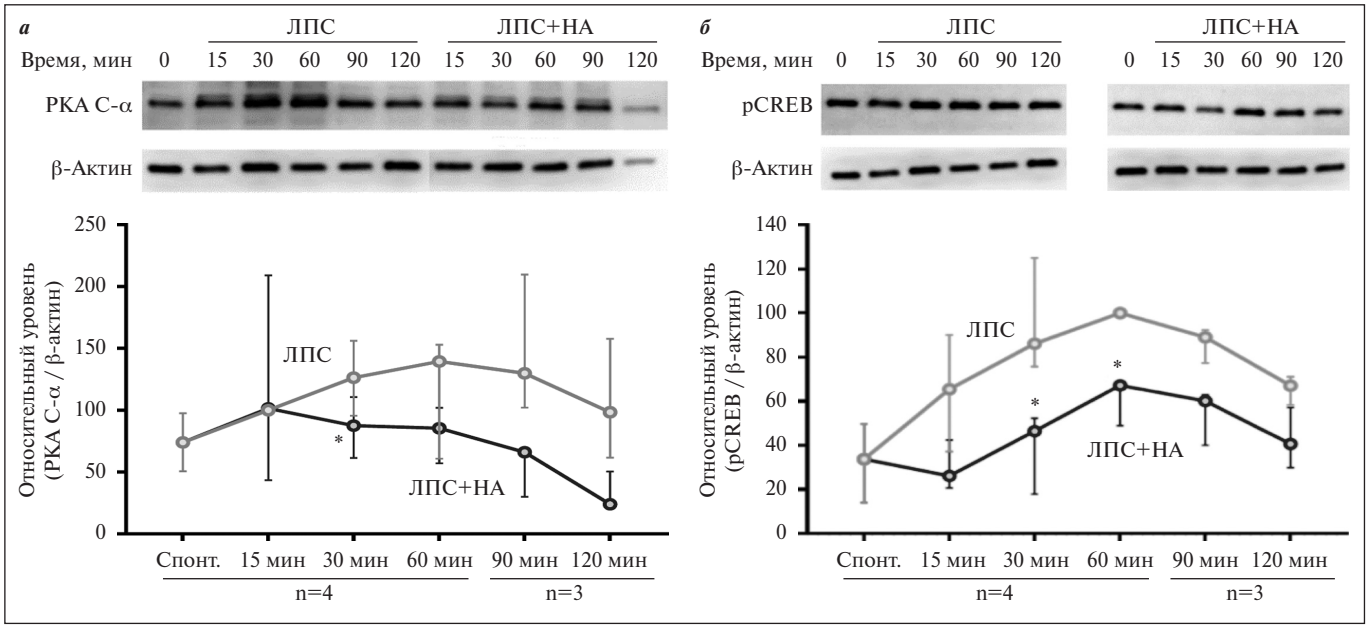

Рис. 2. *Влияние норадреналина на активность PKA и CREB в ЛПС-стимулированных CD14⁺ моноцитах здоровых доноров (а, б). Объяснение в тексте*

Fig. 2. *The effect of noradrenaline on PKA and CREB activity in lipopolysaccharide-stimulated CD14⁺ monocytes from healthy donors (а, б). Explanation in the text*

влияние норадреналина на функции иммунных клеток при РС изучено недостаточно. В настоящем исследовании было показано, что норадреналин оказывает противовоспалительный эффект на взаимодействие $CD14^+$ моноцитов и $CD4^+$ Т-клеток, которое играет критическую роль в патогенезе РС [11, 12].

Во-первых, было установлено, что норадреналин подавляет продукцию ИЛ6 и ИЛ1β $CD14^+$ моноцитами больных РС и здоровых доноров. Это имеет важное значение, поскольку ИЛ6 и ИЛ1β играют важную роль в развитии как системного, так и локального воспаления. В частности, эти цитокины играют ключевую роль в регуляции ранних этапов дифференцирования Th17-клеток, повышают проницаемость ГЭБ и способствуют миграции аутореактивных Т- и В-лимфоцитов, а также моноцитов в ЦНС, в связи с чем рассматриваются как потенциальные терапевтические мишени при РС [13, 14]. Более того, мАТ к рецептору ИЛ6 уже зарегистрированы для лечения демиелинизирующих заболеваний ЦНС (в частности, заболеваний спектра оптиконевромиелита) [13]. Полученные данные согласуются с ранее установленным ингибирующим эффектом норадреналина на продукцию ИЛ6 и фактора некроза опухоли ЛПС-стимулированными МНК здоровых доноров, а также ЛПС-стимулированными THP-1 моноцитами, подтверждая противовоспалительный эффект норадреналина на моноциты [15, 16].

Кроме того, было показано, что в основе противовоспалительного действия норадреналина на $CD14^+$ моноциты может лежать подавление активации сигнального пути «аденилатциклаза – цАМФ – PKA – CREB», который также играет важную роль в иммунорегуляции при РС [17].

Таблица 3. *Продукция ИЛ17 $CD4^+$ Т-клетками, стимулированными $CD14^+$ моноцитами пациентов с РС и здоровых доноров, Me [25-й; 75-й перцентили]*

Table 3. *IL-17 production by $CD4^+$ T cells stimulated by $CD14^+$ monocytes from MS patients and healthy donors, Me [25th; 75th percentiles]*

Цитокин	Стимуляция	Пациенты с РС (n=12)	Здоровые доноры (n=12)
ИЛ17, пг/мл	Неакт. $CD14^+$, – SEB	8 [1; 49]	0 [0; 11]
	ЛПС-акт. $CD14^+$, + SEB	450 [238; 1137]	229 [60; 395]
	Без стим. («–» контроль)	9 [0; 11]	2 [0; 4]
	CD3/CD28 («+» контроль)	1179 [628; 2596]	528 [304; 1124]
ИФНγ, пг/мл	Неакт. $CD14^+$, – SEB	159 [0; 222]	125 [12; 295]
	ЛПС-акт. $CD14^+$, + SEB	9234 [7014; 11 468]	7281 [4827; 9444]
	Без стим. («–» контроль)	81 [31; 140]	163 [12; 273]
	CD3/CD28 («+» контроль)	4927 [2587; 7674]	1790 [1286; 3578]

Примечание. Не выявлено значимых различий между группами (U-тест Манна–Уитни).

Во-вторых, было установлено, что норадреналин непосредственно регулирует взаимодействие $CD14^+$ моноцитов и $CD4^+$ Т-клеток. В частности, было показано, что норадреналин подавляет способность $CD14^+$ моноцитов индуцировать продукцию аутологичными $CD4^+$ Т-клетками провоспалительных цитокинов ИЛ17 и ИФНγ, которые являются ключевыми продуктами Th17- и Th1-клеток соответственно. Примечательно, что эффект норадреналина на индуцируемую $CD14^+$ моноцитами продукцию ИЛ17 и ИФНγ $CD4^+$ Т-клетками согласуется с непосредственным влиянием норадреналина на продукцию цитокинов Т-клетками. Так, было установлено, что норадреналин подавляет

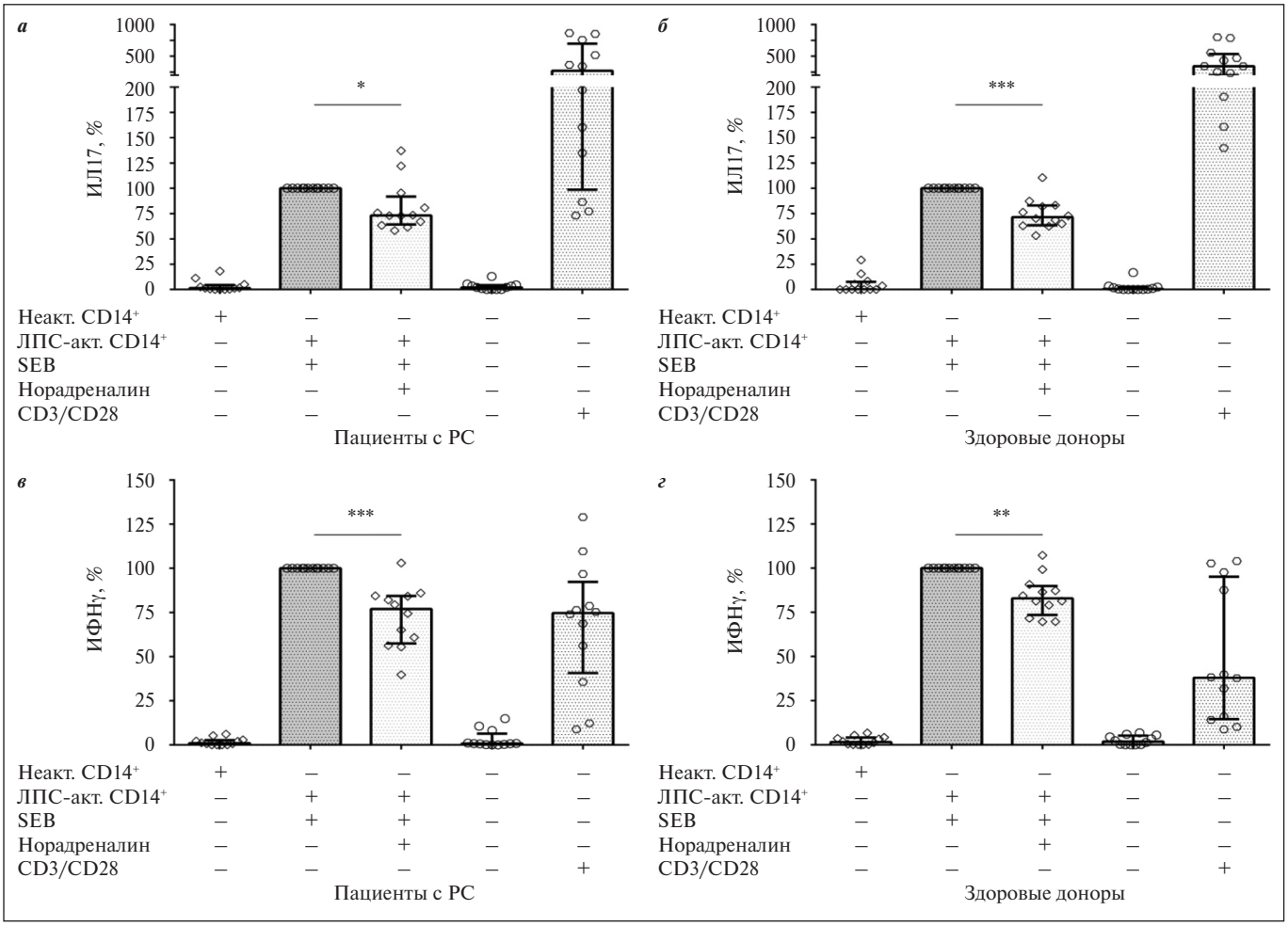

Рис. 3. *Влияние норадреналина на индуцируемую CD14⁺ моноцитами пациентов с РС и здоровых доноров продукцию ИЛ17 и ИФНγ CD4⁺ Т-клетками.*
CD14⁺ моноциты (5 • 10⁴ в 150 мкл на лунку) пациентов с РС или здоровых доноров инкубировали с норадреналином (10 мкмоль) и активировали ИФНγ в течение 2 ч, отмывали и стимулировали ЛПС в течение 2 ч, после чего вносили аутологичные CD4⁺ Т-клетки (10⁵ в 50 мкл на лунку) и добавляли стафилококковый энтеротоксин B (SEB) в качестве антигена. После 72-часовой инкубации в CO_2-инкубаторе в супернатантах клеточной культуры определяли уровни спонтанной и стимулированной продукции ИЛ17 (а, б) и ИФНγ (в, г) методом ИФА

Fig. 3. *The effect of noradrenaline on IL-17 and IFN-γ production by CD4⁺ T cells induced by CD14⁺ monocytes from patients with MS and healthy donors.*
CD14⁺ monocytes (5 • 10⁴ in 150 μl/well) from patients with MS or healthy donors were incubated with noradrenaline (10 μM) and activated with IFN-γ for 2 hours, washed and stimulated with lipopolysaccharide for 2 hours, after which autologous CD4⁺ T cells (10⁵ in 50 μl/well) were added and staphylococcal enterotoxin B (SEB) was added as an antigen. After 72 hours of incubation in a CO_2 incubator, the levels of spontaneous and stimulated production of IL-17 (а, б) and IFN-γ (в, г) were determined in the cell culture supernatants by ELISA

продукцию ИЛ17 и ИФНγ анти-CD3/анти-CD28-стимулированными МНК и CD4⁺ Т-клетками больных РС, находящихся как в стадии клинической ремиссии, так и в стадии обострения [6, 18]. Кроме того, было установлено, что иммунный эффект норадреналина на продукцию цитокинов Т-клетками опосредован β_2AR [6]. В то же время роль β2AR в опосредовании эффекта норадреналина на взаимодействие CD14⁺ моноцитов и CD4⁺ Т-клеток предстоит уточнить.

Стоит отметить, что влияние норадреналина на функции CD14⁺ моноцитов было сходным у больных РС и здоровых доноров, несмотря на то что обмен катехоламинов у больных РС может быть изменен [18–20].

Заключение. Таким образом, полученные в настоящем исследовании предварительные данные указывают на противовоспалительный эффект норадреналина при РС, который может быть опосредован его влиянием на продукцию цитокинов CD14⁺ моноцитами, а также их взаимодействием с CD4⁺ Т-клетками. Важно отметить, что данный эффект согласуется с прямым влиянием норадреналина на продукцию цитокинов Т-клетками и положительным эффектом таргетирования β_2AR при ЭАЭ, что в совокупности позволяет рассматривать норадренергические препараты в качестве потенциальных нейроиммуномодуляторов при РС [7].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Walton C, King R, Rechtman L, et al. Rising prevalence of multiple sclerosis worldwide: Insights from the Atlas of MS, third edition. *Mult Scler.* 2020 Dec;26(14):1816-21. doi: 10.1177/1352458520970841

2. Nally FK, De Santi C, McCoy CE. Nanomodulation of Macrophages in Multiple Sclerosis. *Cells*. 2019 Jun 5;8(6):543. doi: 10.3390/cells8060543

3. Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat Immunol.* 2009 May;10(5):514-23. doi: 10.1038/ni.1716

4. Prineas JW, Parratt JDE. Multiple Sclerosis: Microglia, Monocytes, and Macrophage-Mediated Demyelination. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2021 Oct 26;80(10):975-96. doi: 10.1093/jnen/nlab083

5. Correale J, Halfon MJ, Jack D, et al. Acting centrally or peripherally: A renewed interest in the central nervous system penetration of disease-modifying drugs in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2021 Nov;56:103264. doi: 10.1016/j.msard.2021.103264

6. Melnikov M, Rogovskii V, Sviridova A, et al. The Dual Role of the β_2-Adrenoreceptor in the Modulation of IL-17 and IFN-γ Production by T Cells in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 8;23(2):668. doi: 10.3390/ijms23020668

7. Pilipovic I, Stojic-Vukanic Z, Leposavic G. Adrenoceptors as potential target for add-on immunomodulatory therapy in multiple sclerosis. *Pharmacol Ther.* 2023 Mar;243:108358. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108358

8. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018 Feb;17(2):162-73. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2

9. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983 Nov;33(11):1444-52. doi: 10.1212/wnl.33.11.1444

10. Han TH, Jin P, Ren J, et al. Evaluation of 3 clinical dendritic cell maturation protocols containing lipopolysaccharide and interferon-gamma. *J Immunother.* 2009 May;32(4):399-407. doi: 10.1097/CJI.0b013e31819e1773

11. Spiljar M, Steinbach K, Rigo D, et al. Cold exposure protects from neuroinflammation through immunologic reprogramming. *Cell Metab*. 2021 Nov 2;33(11):2231-46.e8. doi: 10.1016/j.cmet.2021.10.002

12. Ifergan I, Kebir H, Bernard M, et al. The blood-brain barrier induces differentiation of migrating monocytes into Th17-polarizing dendritic cells. *Brain*. 2008 Mar;131(Pt 3):785-99. doi: 10.1093/brain/awm295

13. Jiao L, Guo S. Anti-IL-6 therapies in central nervous system inflammatory demyelinating diseases. *Front Immunol.* 2022 Oct 27;13:966766. doi: 10.3389/fimmu.2022.966766

14. Mendiola AS, Cardona AE. The IL-1β phenomena in neuroinflammatory diseases. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018 May;125(5):781-95. doi: 10.1007/s00702-017-1732-9

15. Ng TM, Toews ML. Impaired norepinephrine regulation of monocyte inflammatory cytokine balance in heart failure. *World J Cardiol.* 2016 Oct 26;8(10):584-9. doi: 10.4330/wjc.v8.i10.584

16. Dimitrov S, Hulteng E, Hong S. Inflammation and exercise: Inhibition of monocytic intracellular TNF production by acute exercise via β_2-adrenergic activation. *Brain Behav Immun*. 2017 Mar;61:60-8. doi: 10.1016/j.bbi.2016.12.017

17. De Keyser J, Laureys G, Demol F, et al. Astrocytes as potential targets to suppress inflammatory demyelinating lesions in multiple sclerosis. *Neurochem Int.* 2010 Nov;57(4):446-50. doi: 10.1016/j.neuint.2010.02.012

18. Boyko A, Melnikov M, Zhetishev R, Pashenkov M. The Role of Biogenic Amines in the Regulation of Interaction between the Immune and Nervous Systems in Multiple Sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2016;23(4):217-23. doi: 10.1159/000449167. Epub 2016 Oct 7.

19. Rajda C, Bencsik K, Vecsei LL, Bergquist J. Catecholamine levels in peripheral blood lymphocytes from multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 2002 Mar;124(1-2):93-100. doi: 10.1016/s0165-5728(02)00002-4

20. Zaffaroni M, Marino F, Bombelli R, et al. Therapy with interferon-beta modulates endogenous catecholamines in lymphocytes of patients with multiple sclerosis. *Exp Neurol.* 2008 Dec;214(2):315-21. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.08.015. Epub 2008 Sep 12.

Поступила / отрецензирована / принята к печати
Received / Reviewed / Accepted
30.04.2025 / 26.06.2025 / 27.06.2025

Заявление о конфликте интересов / Conflict of Interest Statement

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 22-75-10119. Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The study was conducted with financial support from the Russian Science Foundation as part of scientific project No. 22-75-10119. The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Николаева Д.В. https://orcid.org/0009-0008-0113-6555
Жетишев Р.Р. https://orcid.org/0000-0002-1266-5304
Лопатина А.В. https://orcid.org/0000-0002-1380-8442
Свиридова А.А. https://orcid.org/0000-0003-1086-9052
Есипова Д.Д. https://orcid.org/0009-0006-0807-2529
Муругина Н.Е. https://orcid.org/0000-0001-7000-5729
Муругин В.В. https://orcid.org/0000-0002-1011-2554
Бойко А.Н. https://orcid.org/0000-0002-2975-4151
Мельников М.В. https://orcid.org/0000-0001-6880-3668