

**ВЗАИМОСВЯЗЬ СУПРЕССОРА ЦИТОКИНОВОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ *SOCS4* С ОТДЕЛЬНЫМИ
ФАКТОРАМИ, РЕГУЛИРУЮЩИМИ ПРОЛИФЕРАЦИЮ И КЛЕТочНУЮ ГИБЕЛЬ
У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ**

И.В. ТЕРЕХОВ, О.В. ГУК, С.С. БОНДАРЬ, В.К. ПАРФЕНЮК

Тульский государственный университет, ул. Болдина, 128, Тула, 300028, Россия

Аннотация. Несмотря на важную роль *JAK/STAT/SOCS*-сигнального пути в обеспечении клеточной реактивности на различные сигналы внешней среды, роль и взаимосвязи супрессоров цитокиновой сигнализации, в частности, протеина *SOCS4*, с регуляторными и эффекторными молекулами, контролирующими пролиферацию и клеточную смерть, исследовано недостаточно полно.

Цель исследования изучение характера взаимосвязи содержания в мононуклеарных клетках периферической крови супрессора цитокиновой сигнализации *SOCS4* и регуляторов пролиферации и клеточной гибели.

Материал и методы исследования. В ядерно-цитоплазматических лизатах мононуклеарных клеток периферической крови методом ИФА оценивали активность каспазы-3, концентрацию *SOCS4*, *ATG12*, *PP2CA*, *HIPK2*, уровень фосфорилированной по серину в положении 46 формы белка *p53*, фосфорилированной по треонину/серину в положении 181/182 протеинкиназы *p38*, фосфорилированной по серину в положении 32 формы протеинкиназы *ERK*.

Результаты исследования показали, что возрастание содержания в клетке *SOCS4* сопровождается статистически значимым повышением активности каспазы-3, увеличением содержания фосфатазы *PP2CA*, снижением уровня *HIPK2*. Указанные изменения проявлялись дефосфорилированием протеинкиназ *p38*, *ERK* и протеина *p53*. Полученные результаты доказывают, что супрессор цитокиновой сигнализации *SOCS4* вовлечен в регуляцию физиологических процессов, опосредуемых *MAPK/SAPK*-сигнальным путем, в частности, воспаления, пролиферации и клеточной гибели (апоптоза и макроаутофагии).

Ключевые слова: *SOCS4*, апоптоз, аутофагия, *p53*, *p38MAPK*, *ERK*, *MHK*.

**THE INTERCONNECTION OF SUPPRESSOR OF *SOCS4* CYTOKINE SIGNALING WITH
SELECTED FACTORS REGULATING THE PROLIFERATION AND CELLULAR DEATH
IN PRACTICALLY HEALTHY PEOPLE**

I.V. TEREKHOV, O.V. GUK, S.S. BONDAR, V.K. PARFENYUK

Tula State University, ul. Boldina, 128, Tula, 300028, Russia

Abstract. Despite the important role of the *JAK/STAT/SOCS*-signaling pathway in providing cell reactivity to different signals of the external environment, the role and relationship of suppressors of cytokine signaling, in particular, the protein *SOCS4*, with regulatory and effector molecules that control proliferation and cell death, was studied insufficiently.

The research purpose was to study the nature of the relationship of content in the mononuclear cells of peripheral blood suppressor of cytokine signaling *SOCS4* and regulators of proliferation and cell death.

Material and methods. The caspase-3 activity, the concentration of *SOCS4*, *ATG12*, *PP2CA*, *HIPK2*, *h53* (pS46), *p38*, *ERK1/2* was evaluated by ELISA in nuclear-cytoplasmic lysates of mononuclear cells of peripheral blood.

The results of the study revealed that increasing the content in the cell *SOCS4* accompanied by a statistically significant increase in the activity of caspase-3, increase in the content of *PP2CA* phosphatase decreasing levels of *HIPK2*. These changes were manifested by dephosphorylation of protein kinases *P38*, *ERK*, and *p53* protein. The results demonstrate that the suppressor of cytokine signaling *SOCS4* is involved in regulation of physiological processes mediated *MARK/SAPK* signaling by, inter alia, inflammation, proliferation, and cell death (apoptosis and macro-autophagy).

Key words: *SOCS4*, apoptosis, autophagy, *p53*, *p38MAPK*, *ERK*.

Введение. Реактивность иммунокомпетентных клеток в значительной мере определяется состоянием внутриклеточных биохимических путей, из которых *JAK/STAT/SOCS*-сигнальный путь наиболее важен для обеспечения надлежащей клеточной реакции на информационные сигналы – цитокины и факторы роста [6, 7]. Обеспечивая активацию программ саногенеза, упомянутый механизм играет ключевую роль в развитии и поддержании адаптивного иммунного ответа [1, 2]. При этом регуляция воспалительной реакции, инициированной цитокинами, также осуществляется семейством супрессоров цитокиновой сигнализации, представленным белками *SOCS1-7* и *PIAS*. Вместе с тем, *SOCS* белки, как показывают результаты проводимых исследований, также играют важную роль в регуляции апоптоза и аутофагии, регулируя процессы старения и обновления тканей, а также их метаболизм [3, 4]. В частности, установлена возможность белка *SOCS4* регулировать функциональное состояние мононуклеарных клеток цельной крови за счет изменения их чувствительности к липополисахаридам бактерий и инсулину [5, 8]. Изменение реактивности клетки на внешние стимулы, может сопровождаться инициацией различных процессов, в том числе, пролиферации, дифференцировки, либо клеточной гибели. При этом в регуляции программ апоптоза и аутофагии, а также пролиферации, воспаления и дифференцировки, ключевую роль играет протеин *p53*, функциональное состояние которого определяется характером посттрансляционной модификации [9]. Повышение устойчивости белка *p53* к деградации, за счет стабилизации его структуры при взаимодействии с протеинами *OTUD5* и *HIPK2*, является одним из механизмов поддержания баланса пролиферации и клеточной гибели [10, 11]. В настоящее время установлено, что в регуляции макроаутофагии, ключевая роль отводится белкам семейства *ATG*, в частности, *ATG12* и *ATG5*, продукция которых находится под контролем *MAPK/SAPK*-сигнального пути [12, 13]. Напротив, в процессе апоптоза ключевую роль играют каспазы, активация которых так же может быть инициирована через *MAPK/SAPK*-сигнальный путь, путем посттрансляционной модификации протеина *p53*.

Показано, что в физиологических условиях *MAPK/SAPK*-сигнальный путь принимает непосредственное участие в регуляции активности процессов клеточной пролиферации, аутофагии и апоптоза в ответ на управляющие сигналы цитокинов и митогенов, в первую очередь за счет модуляции активности протеина *p53* [13, 14]. Результаты исследований свидетельствуют о том, что указанные процессы контролируются негативными регуляторами, в том числе фосфатазой *PP2CA* [15].

Таким образом, в иммунокомпетентных клетках *JAK/STAT/SOCS* и *MAPK/SAPK*-сигнальный путь являясь регуляторами реактивности в отношении внешних сигналов, осуществляют совместный контроль ключевых внутриклеточных процессов [5, 13, 16, 17]. При этом негативные регуляторы сигнальных путей, возможно, обладают модулирующим влиянием на пролиферативную и метаболическую активность различных типов клеток. Вместе с тем, не смотря на многочисленные публикации, в настоящее время взаимосвязи между негативными регуляторами *MAPK/SAPK*-сигнального пути и *JAK/STAT*, а также роль супрессоров цитокиновой сигнализации в модуляции процессов пролиферации и клеточной гибели изучены недостаточно полно, в связи с чем, **целью настоящего исследования** явилось изучение взаимосвязи содержания в мононуклеарных клетках цельной крови практически здоровых лиц супрессора цитокиновой сигнализации *SOCS4* и уровня протеинов *ATG12*, *HIPK2*, *PP2CA*, активности каспазы-3, степени фосфорилирования белка *p53*, протеинкиназ *p38* и *ERK*.

Материалы и методы исследования. В соответствии с целью исследования обследовано 105 практически здоровых молодых мужчин в возрасте 25±3 года из числа доноров крови. Материалом исследования служила венозная кровь, забиравшаяся из локтевой вены.

Для получения фракции мононуклеарных клеток периферической крови (МНК) 4 мл цельной крови наслаивали на раствор фиколл-верографина ($\rho=1,077$, МедБиоСпектр, Россия) с последующим центрифугированием при 5000 об/мин. в течение 30 мин. Выделенные МНК дважды отмывали в фосфатно-солевом буфере и 1 мл клеточной суспензии, содержащей 5×10^6 клеток, лизировали, используя раствор следующего состава (*Sigma-Aldrich*, США): 10 mM Tris, pH 7,4; 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM $Na_4P_2O_7$, 2 mM Na_3VO_4 , 1% Triton X-100, 10% глицерола, 0,1% SDS, 0,5% деоксихолата, 1 mM PMSF (матричный 0,3 M раствор в DMSO). В лизирующий раствор добавляли (*ex temporo*) 1% коктейля ингибитора протеаз (*Sigma-Aldrich*, США), выдерживали на льду (при $t=+4-5^\circ\text{C}$) в течение 15 мин., аликвотировали и замораживали при -76°C .

В полученных лизатах методом ИФА оценивали концентрацию (нг/мл) белков *SOCS4*, *ATG12*, *HIPK2*, *PP2CA*. Кроме того, определяли уровень фосфорилирования (в условных единицах на нг белка – ед/нг) по треонину/тироzinу в положении 180/182 митоген-активируемой протеинкиназы *p38*, по тирозину/треонину в положении 202/204 протеинкиназы *ERK* (изоформы 1 и 2), по серину в положении 46 протеина *p53*. Активность каспазы-3 (К3) выражали в условных единицах (ед.).

Имуноферментный анализ проводили на анализаторе *Personal LAB (Adaltis Italia S.p.A., Италия)*: разрешение фотометрирования не меньше 0,001 ед. оптической плотности (0,03%) и точность измерения оптической плотности не меньше 0,5%. Подсчет и анализ жизнеспособности клеток выполняли на счетчике клеток *TC20 (Bio-Rad, США)*. Жизнеспособность выделенных МНК превышала 90%.

Статистическую обработку осуществляли с применением программы *Statistica 7.0*, при этом рассчитывали медиану выборки; 10, 25, 75, 90 процентиля (10%, 25%, 75%, 90%). Статистическую значимость (*p*) межгрупповых различий в несвязанных выборках оценивали с помощью *U*-критерия Манна-Уитни, в связанных – с использованием *T*-критерия Уилкоксона.

Результаты и их обсуждение. Проведенный анализ показал, что содержание фактора *SOCS4* в МНК у обследованных лиц составило в среднем 1,32 нг/мл, при этом значение 10-го перцентиля выборки составило 1,19 нг/мл, 90-го – 1,53 нг/мл. Полученные результаты позволили сформировать три исследуемые группы соответствующие низкому, среднему и высокому содержанию в МНК протеина *SOCS4*.

В первую группу (группа №1) включены образцы, с концентрацией *SOCS4* менее 1,19 нг/мл (*n*=19), во вторую (группа №2) – в диапазоне 1,19-1,53 нг/мл (*n*=72), в третью (группа №3) – образцы с концентрацией *SOCS4* более 1,53 нг/мл (*n*=14).

Содержание исследованных факторов в группах представлено в табл.1.

Таблица 1

Уровень исследованных факторов в подгруппах исследования в зависимости от содержания в МНК *SOCS4*

Фактор	Группа № 1		Группа № 2		Группа № 3	
	<i>x</i>	<i>Me</i> (25%; 75%)	<i>x</i>	<i>Me</i> (25%; 75%)	<i>x</i>	<i>Me</i> (25%; 75%)
<i>p38</i> , ед/нг	0,38	0,39 (0,22; 0,52)	0,74	0,44 (0,34; 1,14)	0,35	0,31 (0,29; 0,45)
<i>ERK1/2</i> , ед/нг	2,17	2,15 (2,11; 2,22)	2,49	2,11 (1,85; 3,31)	1,7	2,0 (0,73; 2,3)
Каспаза-3, ед.	0,73	0,74 (0,71; 0,76)	1,06	0,87 (0,61; 1,55)	1,38	1,63 (0,74; 1,78)
<i>ATG12</i> , нг/мл	0,18	0,18 (0,13; 0,23)	0,13	0,12 (0,1; 0,15)	0,15	0,14 (0,13; 0,17)
<i>OTUD5</i> , нг/мл	0,59	0,55 (0,38; 0,81)	0,62	0,67 (0,39; 0,8)	0,57	0,65 (0,33; 0,73)
<i>HIPK2</i> , нг/мл	0,83	0,83 (0,79; 0,87)	0,71	0,77 (0,57; 0,83)	0,57	0,55 (0,45; 0,72)
<i>PP2CA</i> , нг/мл	0,65	0,65 (0,64; 0,66)	0,81	0,76 (0,58; 0,97)	0,94	0,84 (0,69; 1,3)
<i>p53</i> , ед/нг	0,7	0,7 (0,68; 0,72)	0,79	0,83 (0,76; 0,85)	0,67	0,68 (0,48; 0,86)
<i>SOCS4</i>	0,66	0,68 (0,43; 0,9)	1,21	1,2 (1,11; 1,5)	1,7	1,69 (1,5; 1,9)

Результаты корреляционного анализа исследованных показателей в группе с низким уровнем *SOCS4* представлены в табл. 2.

Таблица 2

Взаимосвязи исследованных факторов в группе с низким содержанием в МНК протеина *SOCS4*

	<i>p38</i>	<i>ERK</i>	<i>K3</i>	<i>ATG12</i>	<i>OTUD5</i>	<i>HIPK2</i>	<i>PP2CA</i>	<i>p53</i>	<i>SOCS4</i>
<i>p38</i>		-0,77	-0,44	-0,67	-0,69	0,59	-0,42	0,69	0,68
<i>ERK</i>	-0,77		-0,11	0,66	0,68	0,04	-0,14	-0,69	-0,64
<i>K3</i>	-0,44	-0,11		0,25	0,38	-0,68	0,63	-0,39	-0,29
<i>ATG12</i>	-0,67	0,66	0,25		0,69	-0,43	0,23	-0,69	-0,7
<i>OTUD5</i>	-0,69	0,68	0,38	0,69		-0,55	0,36	-0,8	-0,69
<i>HIPK2</i>	0,59	0,04	-0,68	-0,43	-0,55		-0,87	0,55	0,46
<i>PP2CA</i>	-0,42	-0,14	0,63	0,23	0,36	-0,87		-0,37	-0,27
<i>p53</i>	0,69	-0,69	-0,39	-0,69	-0,8	0,55	-0,37		0,69
<i>SOCS4</i>	0,78	-0,64	-0,29	-0,7	-0,69	0,46	-0,27	0,69	

Примечание: жирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции с уровнем значимости *p*<0,05

Проведенный корреляционный анализ исследованных показателей в группе с низким содержанием *SOCS4* свидетельствует о сильной положительной взаимосвязи данного фактора со степенью фосфорилирования протеина *p53* и протеинкиназы *p38*, умеренной положительной связи с уровнем *HIPK2* и сильной отрицательной с активностью протеинкиназы *ERK1/2*, содержанием протеинов *ATG12* и *OTUD5*, указывая на тесную связь *SOCS4* с активностью *MAPK/SAPK* сигнального пути и процессами протрансляционной модификации субстратов.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что активность протеинкиназы *p38* находится в сильной положительной взаимосвязи с фосфорилированием протеина *p53*, умеренной с уровнем *HIPK2* и сильной отрицательной с содержанием *ATG12*, *OTUD5* и фосфорилированием протеинкиназы *ERK1/2*. При этом в данной группе взаимосвязь протеинкиназ *p38* и *ERK1/2* друг с другом и остальными исследованными факторами носит оппозитный характер. Напротив, содержание *OTUD5* и *ATG12* в данной группе находится в тесной положительной корреляции друг с другом и однонаправлено взаимосвязано с остальными исследованными факторами. Проведенный анализ также свидетельствует об активирующем влиянии белка *ATG12* на уровень фосфорилирования протеинкиназы *ERK*, и подавляющем – в отношении активности *p38*.

Анализ корреляций активности каспазы-3 показал тесную положительную взаимосвязь с содержанием в клетке фосфатазы *PP2CA* и отрицательную с *HIPK2*. При этом активность каспазы-3 находится в слабой зависимости от уровня *ATG12*, *OTUD5* и фосфорилирования *p53*.

Результаты анализа взаимосвязей ключевого регулятора *p53*, свидетельствуют о тесной положительной взаимосвязи уровня его фосфорилирования с активностью протеинкиназы *p38* и уровнем *SOCS4*, а также сильной положительной взаимосвязи с уровнем *HIPK2*, при сильной отрицательной корреляции с активностью *ERK1/2* и содержанием в клетке факторов *ATG12* и *OTUD5*. Таким образом, активность *p53* в группе с низким уровнем *SOCS4* может поддерживаться протеинкиназами *HIPK2* и *p38*, что на фоне низкой активности каспазы-3, а также повышенного содержания протеина *ATG12* способствует ограничению апоптоза в пользу аутофагии.

Результаты корреляционного анализа в подгруппе №2 представлены в табл. 3.

Таблица 3

Взаимосвязи исследованных факторов в группе со средним содержанием в МНК протеина *SOCS4*

	<i>p38</i>	<i>ERK</i>	<i>K3</i>	<i>ATG12</i>	<i>OTUD5</i>	<i>HIPK2</i>	<i>PP2CA</i>	<i>p53</i>	<i>SOCS4</i>
<i>p38</i>	-	0,13	0,15	0,05	0,12	-0,02	-0,33	0,08	0,06
<i>ERK</i>	0,13	-	0,55	0,62	-0,35	0,51	0,32	0,8	0,22
<i>K3</i>	0,15	0,55	-	0,08	-0,73	-0,12	-0,09	0,82	0,75
<i>ATG12</i>	0,05	0,62	0,08	-	-0,12	0,18	-0,16	0,33	-0,43
<i>OTUD5</i>	0,12	-0,35	-0,73	-0,12	-	0,38	0,22	-0,42	-0,58
<i>HIPK2</i>	-0,02	0,51	-0,12	0,18	0,38	-	0,64	0,25	-0,16
<i>PP2CA</i>	-0,33	0,32	-0,09	-0,16	0,22	0,64	-	0,32	0,28
<i>p53</i>	0,08	0,8	0,82	0,33	-0,42	0,25	0,32	-	0,61
<i>SOCS4</i>	0,06	0,22	0,75	-0,43	-0,58	-0,16	0,28	0,61	-

Примечание: жирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции с уровнем значимости $p < 0,05$

Результаты корреляционного анализа в подгруппе со средним содержанием *SOCS4* свидетельствуют о сильной положительной взаимосвязи его уровня с активностью каспазы-3 и фосфорилированием *p53* и умеренной отрицательной взаимосвязи с *ATG12* и *OTUD5*. При этом взаимосвязь степени фосфорилирования протеинкиназ *p38* и *ERK1/2* с содержанием *SOCS4* в данной группе была минимальной. На этом фоне активность *p53* находилась в тесной положительной взаимосвязи с активностью протеинкиназы *ERK1/2* и каспазы-3 и отрицательной с уровнем *OTUD5*. Проведенный анализ так же выявил сохранение положительной взаимосвязи активности протеинкиназы *ERK1/2* с содержанием в МНК протеина *ATG12*.

Результаты исследования показали, что повышение содержания в клетке *SOCS4* от минимального уровня до средних значений сопровождается увеличением уровня фосфорилирования протеинкиназ *p38* и *ERK1/2* на 94,7 ($p=0,001$) и 14,7% ($p=0,044$) соответственно, *p53* на 12,9% ($p=0,051$), активности каспазы-3 на 45,2% ($p=0,013$). При этом по мере увеличения содержания в клетке *SOCS4* также повышается уровень фосфатазы *PP2CA* на 24,6% ($p=0,03$) и *OTUD5* на 5,1% ($p=0,12$). Данные изменения сопровождались снижением уровня *ATG12* на 27,8% ($p=0,021$) и *HIPK2* на 14,5% ($p=0,045$).

Таким образом, средний уровень *SOCS4* ассоциирован с повышенной активностью *MAPK/SAPK*-сигнального пути и протеина *p53*, а так же стимуляцией механизмов апоптоза в МНК.

Результаты корреляционного анализа в подгруппе №3 представлены в табл. 4.

Взаимосвязи исследованных факторов в группе с высоким содержанием в МНК протеина *SOCS4*

	<i>p38</i>	<i>ERK</i>	<i>K3</i>	<i>ATG12</i>	<i>OTUD5</i>	<i>HIPK2</i>	<i>PP2CA</i>	<i>p53</i>	<i>SOCS4</i>
<i>p38</i>	-	0,46	0,7	0,5	0,72	0,85	0,77	0,17	-0,58
<i>ERK</i>	0,46	-	0,83	0,43	0,81	0,67	0,08	0,85	0,31
<i>K3</i>	0,7	0,83	-	0,7	0,9	0,77	0,43	0,79	-0,04
<i>ATG12</i>	0,5	0,43	0,7	-	0,72	0,85	0,81	0,14	-0,72
<i>OTUD5</i>	0,72	0,81	0,9	0,72	-	0,88	0,47	0,76	-0,09
<i>HIPK2</i>	0,85	0,67	0,77	0,85	0,88	-	0,77	0,43	-0,48
<i>PP2CA</i>	0,77	0,08	0,43	0,81	0,47	0,77	-	-0,21	-0,82
<i>p53</i>	0,17	0,85	0,79	0,14	0,76	0,43	-0,21	-	0,58
<i>SOCS4</i>	-0,58	0,31	-0,04	-0,72	-0,09	-0,48	-0,82	0,58	-

Примечание: жирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции с уровнем значимости $p < 0,05$

Анализ содержания исследуемых факторов в группе №3, в сравнении с предыдущей группой, показал, что повышенный уровень *SOCS4* сопровождается увеличением содержания в МНК фосфатазы *PP2CA* на 16,0% ($p=0,046$), фактора *ATG12* на 15,4% ($p=0,051$), ростом активности каспазы-3 на 30,2% ($p=0,032$). Вышеуказанные изменения сопровождались снижением содержания в МНК протеинкиназы *HIPK2* на 19,7% ($p=0,047$), фактора *OTUD5* на 8,1% ($p=0,1$), а также уменьшением степени фосфорилирования протеинкиназы *p38* на 52,7% ($p=0,02$), *ERK1/2* на 31,7% ($p=0,043$), а белка *p53* на 15,2% ($p=0,09$).

Результаты корреляционного анализа выявили сильную отрицательную взаимосвязь содержания *SOCS4* и активности протеинкиназы *p38*, а также *PP2CA*, *HIPK2* и *ATG12*, на фоне положительной взаимосвязи фосфорилирования *p53* и *SOCS4*. В свою очередь уровень фосфорилирования *p53* положительно связан с содержанием в МНК протеина *OTUD5*, протеинкиназы *HIPK2*, а также уровнем фосфорилирования протеинкиназы *ERK1/2* и активностью каспазы-3. Уровень фосфатазы *PP2CA* в данной подгруппе отличается сильной положительной взаимосвязью с уровнем фосфорилирования *p38*, содержанием *HIPK2* и *ATG12*. При этом содержание последнего фактора характеризуется сильной положительной взаимосвязью с уровнем *OTUD5*, *HIPK2*, *PP2CA*, фосфорилированием *p38* и активностью каспазы-3.

Таким образом, повышенный уровень *SOCS4* ассоциируется со снижением активности протеинкиназ *p38* и *ERK1/2*, а также белка *p53* наблюдающемся на фоне повышенного уровня фосфатазы *PP2CA*. Оказывая негативное влияние на активность *JAK/STAT* сигнального пути, за счет дефосфорилирования сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции (*STAT*-факторов), *SOCS4* также способствует повышению содержания в клетке негативного регулятора активности *MAPK/SAPK*-сигнального пути – фосфатазы *PP2CA*, что в конечном итоге приводит к снижению активности терминальных протеинкиназ *p38* и *ERK1/2*, а также к подавлению фосфорилирования *p53* [18, 19]. При этом снижение содержания в МНК протеинкиназы *HIPK2*, специфически фосфорилирующей протеин *p53* по остаткам серина в положении 46, способствует ускорению его деградации, дефосфорилированию и сокращению времени нахождения протеина в функционально активном состоянии [10, 19].

Проведенный анализ показал, что противовоспалительное действие *SOCS4* может определяться его негативным влиянием на уровень фосфорилирования протеинкиназы *p38*, способным понижать чувствительность иммунокомпетентных клеток к цитокинам ответа острой фазы (в первую очередь *ИЛ-1β* и *ФНОα*), митогенам и липополисахариду бактерий. Кроме того противовоспалительное действие *SOCS4* может определяться активацией каспазы-3, способствующей апоптозу активированных иммунокомпетентных клеток, в том числе, являющихся аутореактивными и гиперреактивными [3, 5, 18].

Влияние *SOCS4* на процессы пролиферации и клеточной гибели определяется его отрицательной взаимосвязью с уровнем *ATG12* и положительной – с уровнем фосфорилирования *p53*, а также активностью каспазы-3. Кроме того, *SOCS4* оказывает влияние на процессы пролиферации, апоптоза и аутофагии модифицируя степень фосфорилирования протеинкиназы *ERK*, очевидно через фосфатазу *PP2CA* [15, 20-22].

Анализ полученных результатов указывает на то, что *MAPK/SAPK*-сигнальный путь вовлечен в регуляцию процессов пролиферации, апоптоза и аутофагии, компоненты которого имеют тесные связи с активностью протеина *p53* и каспазы-3, протеинами *ATG12* и *OTUD5*, протеинкиназой *HIPK2* вне зависимости от содержания в клетке *SOCS4*. Вместе с тем, проведенный анализ показал, что возрастание содержания в клетке *SOCS4* сопровождается статистически значимым пропорциональным повышением активности каспазы-3, увеличением содержания в МНК негативного регулятора *MAPK/SAPK*-

сигнального пути – фосфатазы *PP2CA*, и снижением уровня протеинкиназы *HIPK2*. Указанные изменения сопровождаются снижением уровня фосфорилирования терминальных протеинкиназ *MAPK/SAPK*-сигнального пути, в особенности, *ERK*. При этом низкая активность данных протеинкиназ, способствует снижению экспрессии генов *Atg*, и соответствующей динамике уровня *ATG12*, наблюдаемой у обследованных.

В данных условиях, очевидно, что снижение активности *MAPK/SAPK*-сигнального пути при повышении в клетках содержания *SOCS4* определяет изменение их чувствительности к митогенам, факторам роста и цитокинам, что может являться одним из механизмов противовоспалительного действия *SOCS4*, не связанного с его влиянием на *JAK/STAT*-сигнальный путь. При этом очевидно, что *SOCS4* также вовлечен в регуляцию механизмов клеточной гибели, способствуя реализации программ апоптоза или аутофагии, в зависимости его содержания в клетке, за счет модулирующего влияния на процессы посттрансляционной модификации протеина *p53*, опосредуемого протеинкиназой *HIPK2*.

Полученные результаты доказывают, что супрессор цитокиновой сигнализации *SOCS4* вовлечен в регуляцию физиологических процессов, опосредуемых *MAPK/SAPK*-сигнальным путем, в частности, воспаления, пролиферации и клеточной гибели. Данный фактор может являться мишенью терапевтического воздействия с целью регуляции продолжительности клеточной жизни и стимуляции процессов са-ногенеза.

Литература

1. Бондарь С.С., Логаткина А.В., Терехов И.В. Состояние *MAPK/SAPK*-сигнального пути в агранулоцитах цельной крови в постклиническом периоде инфекционно-воспалительного процесса под влиянием низкоинтенсивного электромагнитного излучения частотой 1000 МГц // Вестник новых медицинских технологий. 2016. Т. 23, № 1. С. 142–150. DOI: 10.12737/185000.
2. Воеводин А.А., Бондарь С.С., Терехов И.В. Терминальные компоненты *IL1/TOLL* и *NF-κB* сигнальных путей в мононуклеарах цельной крови у реконвалесцентов пневмонии и возможность их коррекции низкоинтенсивным излучением частотой 1 ГГц // Вестник новых медицинских технологий. 2016. Т. 23, № 3. С. 122–129. DOI: 10.12737/21757.
3. Минеев В.Н., Сорокина Л.Н., Лим В.В. Роль *SOCS*-белков в негативной регуляции *JAK-STAT* сигнализации // Цитокины и воспаление. 2012. Т. 11, №2. С. 14–22.
4. Солодихин К.А., Никифоров В.С., Громов М.С., Парфенюк В.К., Бондарь С.С., Терехов И.В. Влияние низкоинтенсивного СВЧ-облучения на внутриклеточные процессы в мононуклеарах при пневмонии // Медицинская иммунология. 2012. Т.14, №6. С. 541–544.
5. Терехов И.В., Бондарь С.С., Хадарцев А.А. Состояние рецепторзависимых сигнальных путей в агранулоцитах периферической крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием микроволнового излучения // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 2016. Т. 93, №3. С. 23–28.
6. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Функциональное состояние клеток цельной крови при внебольничной пневмонии и его коррекция СВЧ-излучением // Фундаментальные исследования. 2014. № 10 (4). С. 737–741.
7. Терехов И.В., Хадарцев А.А., Никифоров В.С., Бондарь С.С. Продукция цитокинов клетками цельной крови реконвалесцентов внебольничной пневмонии под влиянием низкоинтенсивного СВЧ-облучения // Вестник новых медицинских технологий (электронный журнал). 2014. Публикация 2-57. URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf> (дата обращения 30.06.2014). DOI: 10.12737/5025.
8. Au V., Tsang F.H., Man K., Fan S.T., Poon R.T.P., Lee N.P. Expression of ankyrin repeat and *SOCS* box containing 4 (*asb4*) confers migration and invasion properties of hepatocellular carcinoma cells // *BioScience Trends*. 2014. Vol. 8, № 2. P. 101–110.
9. Avdi N.J., Malcolm K.C., Nick J.A., Worthen G.S. A role for protein phosphatase-2A in p38 mitogen-activated protein kinase-mediated regulation of the c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in human neutrophils // *J Biol Chem*. 2002. Vol. 277, №43. P. 40687–40696.
10. Feng X., Leng J., Tang H., Jiang Q. Suppressors of cytokine signaling (*SOCS*) and type 2 diabetes // *Molecular Biology Reports*. 2014. Vol. 41, № 4. P. 2265–2274.
11. Kedzierski L., Linossi E.M., Kolesnik T.B., Day E.B., Bird N.L., Kile B.T., Belz G.T., Metcalf D., Nicola N.A., Kedzierska K., et al. Suppressor of cytokine signaling 4 (*SOCS4*) protects against severe cytokine storm and enhances viral clearance during influenza infection // *PLoS Pathog*. 2014. Vol. 10, № 5. e1004134.
12. Luo J., Lu Z., Lu X. *OTUD5* Regulates *p53* Stability by Deubiquitinating *p53*. Hofmann T.G., ed. // *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, №10. e77682. DOI:10.1371/journal.pone.0077682.
13. Martinez-Lopez N., Athonvarangkul D., Mishall P., Sahu S., Singh R. Autophagy proteins regulate *ERK* phosphorylation // *Nature Communications*. 2013. Vol. 4. P. 2799. DOI:10.1038/ncomms3799.

14. Nardinocchi L., Puca R., Givol D., D'Orazi G. HIPK2-a therapeutical target to be (re)activated for tumor suppression: role in p53 activation and HIF-1 α inhibition // *Cell Cycle*. 2010. Vol. 9, №7. P. 1270–1275.
15. Netea-Maier R.T., Plantinga T.S., van de Veerdonk F.L., Smit J.W., Netea M.G. Modulation of inflammation by autophagy: Consequences for human disease // *Autophagy*. 2016. Vol. 12, №2. P. 245–260. DOI:10.1080/15548627.2015.1071759.
16. Nick J.A., Young S.K., Brown K.K., Avdi N.J., Arndt P.G., Suratt B.T., Janes M.S., Henson P.M., Worthen G.S. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in a murine model of pulmonary inflammation // *J Immunol*. 2000. Vol. 164, №4. P. 2151–2159.
17. Pujalis D., Goetsch J., Kottas D.J., Gerke V., Rescher U. Annexin a1 released from apoptotic cells acts through formyl peptide receptors to dampen inflammatory monocyte activation via JAK/STAT/SOCS signalling // *EMBO Molecular Medicine*. 2011. Vol. 3, №2. P. 102–114.
18. Ratovitski E.A. Tumor Protein (TP)-p53 Members as Regulators of Autophagy in Tumor Cells upon Marine Drug Exposure // *Mar Drugs*. 2016. Vol. 14, № 8. P. 154.
19. Romanov J., Walczak M., Ibiricu I. Mechanism and functions of membrane binding by the Atg5-Atg12/Atg16 complex during autophagosome formation // *The EMBO journal*. 2012. Vol. 31, № 22. P. 4304–4317. DOI:10.1038/emboj.2012.278.
20. Wang Y., Debatin K.-M., Hug H. HIPK2 overexpression leads to stabilization of p53 protein and increased p53 transcriptional activity by decreasing Mdm2 protein levels // *BMC Molecular Biology*. 2001. Vol. 2. P. 8. DOI:10.1186/1471-2199-2-8.
21. Yoshimura A., Naka T., Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation // *Nat. Rev. Immunol*. 2007. Vol. 7. P. 454–465.
22. Zhong W., Zhu H., Sheng F. Activation of the MAPK11/12/13/14 (p38 MAPK) pathway regulates the transcription of autophagy genes in response to oxidative stress induced by a novel copper complex in HeLa cells // *Autophagy*. 2014. Vol. 10, №7. P. 1285–1300. DOI:10.4161/auto.28789.

References

1. Bondar' SS, Logatkina AV, Terekhov IV. Sostoyanie MAPK/SAPK-signal'nogo puti v agranulotsitakh tsel'noy krovi v postklinicheskom periode infektsionno-vospalitel'nogo protsesssa pod vliyaniem nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya chastotoy 1000 MGts [The state of the MAPK / SAPK signaling pathway in agranulocytes of whole blood in the post-clinical period of the infectious-inflammatory process under the influence of low-intensity electromagnetic radiation of frequency 1000 MHz] *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2016;23(1):142-50. Russian.
2. Voevodin AA, Bondar' SS, Terekhov IV. Terminal'nye komponenty IL1/TOLL i NF-KB signal'nykh putey v mononuklearakh tsel'noy krovi u rekonvalescentov pnevmonii i vozmozhnost' ikh korrektsii nizkointensivnym izlucheniem chastotoy 1 GGts [terminal components of IL1 / TOLL and NF-KB signaling pathways in whole blood mononuclear cells in pneumonia convalescents and the possibility of their correction by low-intensity radiation at a frequency of 1 GHz]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2016;23(3):122-9. Russian.
3. Mineev VN, Sorokina LN, Lim VV. Rol' SOCS-belkov v negativnoy regulyatsii JAK-STAT signalizatsii [Role of SOCS proteins in the negative regulation of JAK-STAT signaling]. *Tsitokiny i vospalenie*. 2012;11(2):14-22. Russian.
4. Solodukhin KA, Nikiforov VS, Gromov MS, Parfenyuk VK, Bondar' SS, Terekhov IV. Vliyanie nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya na vnutrikletochnye protsessy v mononuklearakh pri pnevmonii [Influence of low-intensity microwave irradiation on intracellular processes in mononuclears in pneumonia]. *Meditsinskaya immunologiya*. 2012;14(6):541-4. Russian.
5. Terekhov IV, Bondar' SS, Khadartsev AA. Sostoyanie retseptorzavisimykh signal'nykh putey v agranulotsitakh perifericheskoy krovi rekonvalescentov vnebol'nichnoy pnevmonii pod vliyaniem mikrovolnovogo izlucheniya [Condition of receptor-dependent signaling pathways in peripheral blood agranulocytes of convalescents of community-acquired pneumonia under the influence of microwave radiation]. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoy fizicheskoy kul'tury*. 2016;93(3):23-8. Russian.
6. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Funktsional'noe sostoyanie kletok tsel'noy krovi pri vnebol'nichnoy pnevmonii i ego korrektsiya SVCh-izlucheniem [Functional state of whole blood cells in community-acquired pneumonia and its correction by microwave radiation]. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014;10 (4):737-41. Russian.
7. Terekhov IV, Khadartsev AA, Nikiforov VS, Bondar' SS. Produktsiya tsitokinov kletkami tsel'noy krovi rekonvalescentov vnebol'nichnoy pnevmonii pod vliyaniyam nizkointensivnogo SVCh-oblucheniya [Production of cytokines by whole blood cells of convalescents of community-acquired pneumonia under the influence of low-intensity microwave radiation]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy (elektronnyy zhurnal)*. 2014 [cited 2014 Jun 30]. Russian. Available from: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4815.pdf>.

8. Au V, Tsang FH, Man K, Fan ST, Poon RTP, Lee NP. Expression of ankyrin repeat and SOCS box containing 4 (asb4) confers migration and invasion properties of hepatocellular carcinoma cells. *BioScience Trends*. 2014;8(2):101-10.
9. Avdi NJ, Malcolm KC, Nick JA, Worthen GS. A role for protein phosphatase-2A in p38 mitogen-activated protein kinase-mediated regulation of the c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in human neutrophils. *J Biol Chem*. 2002;277(4):40687-96.
10. Feng X, Leng J, Tang H, Jiang Q. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) and type 2 diabetes. *Molecular Biology Reports*. 2014;41(4):2265-74.
11. Kedzierski L, Linossi EM, Kolesnik TB, Day EB, Bird NL, Kile BT, Belz GT, Metcalf D, Nicola NA, Kedzierska K. Suppressor of cytokine signaling 4 (SOCS4) protects against severe cyto-kine storm and enhances viral clearance during influenza infection. *PLoS Pathog*. 2014;10(5). e1004134.
12. Luo J, Lu Z, Lu X. OTUD5 Regulates p53 Stability by Deubiquitinating p53. Hofmann T.G. *PLoS ONE*. 2013;8(10). e77682. DOI:10.1371/journal.pone.0077682.
13. Martinez-Lopez N, Athonvarangkul D, Mishall P, Sahu S, Singh R. Autophagy proteins regulate ERK phosphorylation. *Nature Communications*. 2013;4:2799. DOI:10.1038/ncomms3799.
14. Nardinocchi L, Puca R, Givol D, D'Orazi G. HIPK2-a therapeutical target to be (re)activated for tumor suppression: role in p53 activation and HIF-1 α inhibition. *Cell Cycle*. 2010;9(7):1270-5.
15. Netea-Maier RT, Plantinga TS, van de Veerndonk FL, Smit JW, Netea MG. Modulation of inflammation by autophagy: Consequences for human disease. *Autophagy*. 2016;12(2):245-60. DOI:10.1080/15548627.2015.1071759.
16. Nick JA, Young SK, Brown KK, Avdi NJ, Arndt PG, Suratt BT, Janes MS, Henson PM, Worthen GS. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in a murine model of pulmonary inflammation. *J Immunol*. 2000;164(4):2151-9.
17. Pujalis D, Goetsch J, Kottas DJ, Gerke V, Rescher U. Annexin a1 released from apoptotic cells acts through formyl peptide receptors to dampen inflammatory monocyte activation via JAK/STAT/SOCS signaling. *EMBO Molecular Medicine*. 2011;3(2):102-14.
18. Ratovitski EA. Tumor Protein (TP)-p53 Members as Regulators of Autophagy in Tumor Cells upon Marine Drug Exposure. *Mar Drugs*. 2016;14(8):154.
19. Romanov J, Walczak M, Ibiricu I. Mechanism and functions of membrane binding by the Atg5-Atg12/Atg16 complex during autophagosome formation. *The EMBO journal*. 2012;31(22):4304-17. DOI:10.1038/emboj.2012.278.
20. Wang Y, Debatin K-M, Hug H. HIPK2 overexpression leads to stabilization of p53 protein and increased p53 transcriptional activity by decreasing Mdm2 protein level. *BMC Molecular Biology*. 2001;2(8). DOI:10.1186/1471-2199-2-8.
21. Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signalling and immune regulation. *Nat. Rev. Immunol*. 2007;7:454-65.
22. Zhong W, Zhu H, Sheng F. Activation of the MAPK11/12/13/14 (p38 MAPK) pathway regulates the transcription of autophagy genes in response to oxidative stress induced by a novel copper complex in HeLa cells. *Autophagy*. 2014;10(7):1285-300. DOI:10.4161/auto.28789.

Библиографическая ссылка:

Терехов И.В., Гук О.В., Бондарь С.С., Парфенюк В.К. Взаимосвязь супрессора цитокиновой сигнализации *socs4* с отдельными факторами, регулирующими пролиферацию и клеточную гибель у практически здоровых лиц // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2017. №3. Публикация 2-14. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2017-3/2-14.pdf> (дата обращения: 14.09.2017). DOI: 10.12737/article_59c4d03d599509.68862815.