

## ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ МИЕЛОПЕПТИДОВ МП-5 И МП-6 ПРИ СТРЕССЕ

© 2019 г. О. Н. Гейн<sup>5\*</sup>, Т. В. Гаврилова<sup>1,4</sup>, Я. А. Кадочникова<sup>3</sup>,  
М. В. Черешнева<sup>2</sup>, В. А. Черешнев<sup>2,4</sup>

\*E-mail: gein@iegm.ru

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный научно-исследовательский университет, Пермь, Россия;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пермь, Россия;

<sup>5</sup>ФГБОУ ВО Пермская государственная фармацевтическая академия МЗ РФ, Пермь, Россия

Поступила: 06.03.2019. Принята: 18.03.2019

Миелопептиды МП-5 и МП-6 способны корригировать изменения продукции активных форм кислорода и цитокинов (IL-1 $\beta$  и IL-10) перитонеальными макрофагами в условиях стресса.

**Ключевые слова:** миелопептиды, стресс, макрофаги, цитокины

DOI: 10.31857/S102872210006718-4

**Адрес:** 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» МЗ РФ, кафедра фармакологии, Гейн Оксана Николаевна.  
Тел./факс: (8342)282-58-31(сл.), 8-908-277-83-99 (моб.).

**E-mail:** gein@iegm.ru

**Авторы:**

**Гейн О. Н.**, к.б.н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Пермская государственная фармацевтическая академия МЗ РФ, Пермь, Россия;

**Гаврилова Т. В.**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, заведующая кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава РФ, Пермь, Россия;

**Кадочникова Я. А.**, студентка биологического факультета ФГБОУ ВПО Пермский государственный научно-исследовательский университет, Пермь, Россия;

**Черешнева М. В.**, д.м.н., профессор, гл.н.с. Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

**Черешнев В. А.**, д.м.н., профессор, академик РАН, гл.н.с. Института иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

Миелопептиды (МП) представляют собой низкомолекулярные пептиды костномозгового происхождения. Выделяют шесть основных фракций МП, которые отличаются друг от друга аминокислотной последовательностью и вызываемыми ими эффектами. Так, МП-1 проявляет

иммунорегуляторные свойства, восстанавливает баланс между различными субпопуляциями Т-лимфоцитов. МП-2 способствует восстановлению нарушенных функций Т-лимфоцитов при опухолевых процессах. МП-3 — стимулирует фагоцитарную активность макрофагов. МП-4 и МП-6 обладают дифференцировочной активностью в отношении лейкоцитов [3, 4]. Однако роль миелопептидов в регуляции стрессорных воздействий изучена недостаточно.

**Цель работы** — изучение влияния миелопептидов МП-5 и МП-6 на различные показатели функциональной активности перитонеальных макрофагов в условиях различных типов стресса.

Объектом исследования в эксперименте *in vivo* служили белые беспородные мыши (самцы) массой тела 17–22 г.

В качестве стрессорного воздействия использовались: 2- и 6-часовой иммобилизационный стресс, а также 10 мин переохлаждение при  $t = -20^\circ\text{C}$ . Пептиды МП-5 или МП-6 вводили внутривентриально за 30 мин до стрессорного воздействия в дозе 40 мкг/кг. Животные были разделены на 4 группы: 1 — контрольная (интактные мыши); 2 — стресс; 3 — стресс + МП-5 или МП-6; 4 — введение МП-5 или МП-6 без стрессорного

воздействия. По окончании действия стресса животных декапитировали под эфирным наркозом. Выделение перитонеальных макрофагов у мышей проводилось стандартным методом. Оценка продукции активных форм кислорода перитонеальными клетками производили с помощью реакции люминолзависимой хемиллюминесценции (ЛЗХЛ). В качестве индуктора ЛЗХЛ использовали опсонизированный зимозан в концентрации 150 мкг/мл, в качестве маркера выраженности реакции ЛХЗЛ — люминол в концентрации  $10^{-5}$  М. Результаты регистрировали в течение 1 ч каждые 5 мин с помощью многофункционального спектрофотометра (“Tecan Trading AG”, Швейцария).

Для оценки продукции цитокинов перитонеальные макрофаги культивировали в 24-луночных планшетах (“Costar”, США). В каждую лунку помещали  $10^6$  клеток в 1 мл приготовленной *ex tempore* полной культуральной среды на основе RPMI 1640 (Gibco, “ThermoFisher Scientific”, США), содержащей 10 мМ HEPES (“Sigma-Aldrich”, США), 2 мМ L-глутамин (“Sigma-Aldrich”), 100 мкг/мл пенициллина, 100 ед/мл стрептомицина и 10% ЭТС (“Биолот”, Россия). В качестве индуктора продукции провоспалительных цитокинов использовали опсонизированный зимозан в концентрации 150 мкг/мл.

Количественное определение IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-12 и IL-10 проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью наборов (“R&D”, США) согласно методике, предложенной производителем.

Оценку апоптоза клеток перитонеального смыва проводили на проточном цитофлуориметре. Окраску клеток проводили с использованием коммерческого набора реагентов аннексина-FITC и 7AAD согласно инструкции производителя (Beckman Coulter, США). Определение доли клеток, экспрессирующих фосфатидилсерин, осуществляли на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Статистический анализ проводили с помощью непарного t-критерия Стьюдента.

В результате проведенных экспериментов установлено, что иммобилизационный стресс не влиял на спонтанную продукцию активных форм кислорода перитонеальными макрофагами. Изолированное введение животным миелопептида МП-5 стимулировало спонтанную продукцию активных форм кислорода макрофагами. Однако при введении МП-5 на фоне иммобилизационного стресса, изменений спон-

танной продукции активных форм кислорода макрофагами зарегистрировано не было. В группах животных на фоне изолированного введения МП-6 не было выявлено изменений спонтанной продукции кислородных радикалов макрофагами. При анализе стимулированной ЛЗХЛ было установлено, что стресс угнетал продукцию активных форм кислорода в зимозан стимулированных культурах, а МП-5 и МП-6 отменяли эффект стресса.

Введение мышам МП-5 и МП-6 также отменяло стресс-индуцированное угнетение IL-1 $\beta$  при иммобилизационном стрессе и нивелировало усиление продукции IL-10 на фоне 10 мин холодового стресса. На апоптоз клеток перитонеального смыва и продукцию кортикостерона при стрессе миелопептиды влияния не оказывали.

Таким образом, миелопептиды МП-5 и МП-6 оказывали корректирующий эффект на функции перитонеальных макрофагов.

Ранее было показано, что аналогичным действием по отношению к продукции кислородных радикалов и IL-1 $\beta$  обладал МП-3 [1], а МП-1 оказывал модулирующее влияние на пролиферацию клеток селезенки мышей в модели иммунодефицитного состояния [3]. В системе *in vitro* было выявлено активирующее действие на спонтанную продукцию IL-1 $\beta$  для МП-3, 5, 6 [2]. Таким образом, полученные нами данные указывают на перспективность дальнейшего исследования иммунокорректирующего влияния МП-5, МП-6 и других миелопептидов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Гейн С. В., Гаврилова Т. В., Журавлёва Л. С., Черешнева М. В., Кирилина Е. А., Черешнев В. А. // Доклады Академии наук. 2014. 455(2). 232–234. [Gein S. V., GavriloVA T. M., Zhuravleva L. S., ChereshneVA M. V., Kirilina E. A., Chereshnev V. A. // Doclady Academy of Sciences, 2014, 455(2), 232–234].
2. Гейн С. В., Гаврилова Т. В., Черешнев В. А., Черешнева М. В. // Цитокины и воспаление. 2008. 7(1). 24–28. [Gein S. V., GavriloVA T. M., Chereshnev V. A., ChereshneVA M. V. // Cytokines and inflammation, 2008, 7(1). 24–28.].
3. Петров Р. В., Михайлова А. А., Фомина Л. А., Степаненко Р. Н. Миелопептиды. — М.: Наука, 2000. 181 с. [Petrov R. V., Mikhailova A. A., Fonina L. A., Stepanenko R. N. Myelopeptides. — M.: Science, 2000, 181].
4. Руднева Т. Б., Осипова Е. Ю., Махайлова А. А., Манько В. М. Коррекция миелопептидами дифференцировки кроветворных клеток-предшественников у мышей с экспериментальным Т-иммунодефицитом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1989. — Т. 107, № 6. — с. 718–720.

[Rudneva T. B., Osipova E. Yu., Makhaylova A. A., Manko V. M. Correction of myelopeptide differentiation of hematopoietic progenitor cells in mice with

experimental T-immunodeficiency // Bulletin of experimental biology and medicine—1989.—Т. 107, № 6.—с. 718—720.].

## IMMUNE MODULATING EFFECTS OF MYELOPEPTIDES MP-5 AND MP-6 UNDER THE STRESS CONDITIONS

© 2019 O. N. Gein<sup>5\*</sup>, T. V. Gavrilova<sup>1,4</sup>, Ya. A. Kadochnikova<sup>3</sup>, M. V. Chereshneva<sup>2</sup>, V. A. Chereshnev<sup>2</sup>

\*E-mail: gein@iegm.ru

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russia;

<sup>2</sup>FGBUN Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

<sup>3</sup>Perm State Research University Perm State Medical University, Perm, Russia;

<sup>4</sup>FSBEI HE «Academician E. A. Wagner Perm State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Perm, Russia;

<sup>5</sup>FGBOU VO Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia

**Received:** 06.03.2019. **Accepted:** 18.03.2019

The myelopeptides MP-5 and MP-6 are capable of correcting changes in the production of reactive oxygen species and cytokines (IL-1 $\beta$  and IL-10) by peritoneal macrophages under stress.

*Key words:* myelopeptides, stress, macrophages, cytokines

### Authors:

**Gein O. N.**, ✉ candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacology, Perm State Pharmaceutical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russia. **E-mail:** gein@iegm.ru;

**Gavrilova T. V.**, MD, professor, leading researcher of the institute of ecology and genetics of microorganisms, ural branch of the russian academy of sciences, Head of the Department FSBEI HE «Academician E. A. Wagner Perm State Medical University» Perm, Russia;

**Kadochnikova Y. A.**, a student of the Biology Faculty of the Perm State Research University, Perm, Russia;

**Chereshneva M. V.**, MD, Professor, Research Fellow, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

**Chereshnev V. A.**, Academician of the Russian Academy of Sciences, MD, Chief Researcher of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia.