

ВКЛАД РАЗНЫХ ТИПОВ МЕЛАТОНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ГОРМОН-ЗАВИСИМУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ЛИМФОЦИТОВ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ IL-17 (Th17)

© 2019 г. Н. С. Глебездина^{1*}, И. В. Некрасова¹, А. А. Олина²,
Г. К. Садыкова³

*E-mail: glebezdina_n@mail.ru

¹«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;
²ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта»,
Санкт-Петербург, Россия;
³ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е. А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия

Поступила: 28.02.2019. Принята: 18.03.2019

Исследовано участие разных типов мелатониновых рецепторов в гормон-зависимой регуляции дифференцировки Т-хелперов, продуцирующих IL-17 (Th17). Показано, что в низких физиологических концентрациях мелатонин реализует эффекты через мембранные рецепторы, тогда как действие фармакологических концентраций гормона опосредуется как мембранными, так и ядерными рецепторами, и имеет дозовую зависимость.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, Th17, мелатонин, мелатониновые рецепторы, MT1, MT2, ROR α

DOI: 10.31857/S102872210006713-9

Адрес: 614081, Пермь, ул. Голева, д. 13, «ИЭГМ УрО РАН», лаборатория иммунорегуляции. Глебездина Наталья Сергеевна. Тел./факс: +7(342) 2808431 / +7(342) 2809211

E-mail: glebezdina_n@mail.ru

Авторы:

Глебездина Н. С., к.б.н., м.н.с. лаборатории иммунорегуляции «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

Некрасова И. В., к.б.н., н.с. лаборатории иммунорегуляции «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

Олина А. А., д.м.н., заместитель директора по развитию ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

Садыкова Г. К., к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» МЗ РФ, Пермь, Россия.

Мелатонин, высоколипофильная молекула, секретируемая в основном шишковидной железой, обладает широким спектром функций, в том числе способен эффективно регулировать активность клеток иммунной системы [1]. Ранее в исследованиях *in vitro* нами была показана способность мелатонина регулировать дифференцировку интактных CD4⁺ Т-лимфоцитов

в Th17 [2]. Как и другие лимфоциты, Th17 экспрессируют на мембране два типа мелатониновых рецепторов с разной аффинностью – MT1 и MT2, а также внутриклеточный рецептор ROR α , который является одновременно одним из двух основных дифференцировочных факторов для этих клеток и через который, как предполагают, опосредуются иммуностимулирующие и противоопухолевые эффекты мелатонина [3, 4]. Задачей настоящей работы была оценка роли конкретных мелатониновых рецепторов в реализации выявленных эффектов гормона.

Объектами исследования служили лейкоциты здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (32,0±1,69 лет, n=20). Дифференцировку фракционированных наивных CD4⁺ Т-лимфоцитов в Th17 оценивали в 48 ч культуре по экспрессии клетками транскрипционного фактора ROR γ t проточной цитометрией, а также по продукции ключевого цитокина IL-17A методом ИФА. Источником эндогенного мелатонина, уровень которого также устанавливали методом ИФА, служила аутологичная сыворотка крови. Экзогенный гормон исполь-

зовали в фармакологических концентрациях 0,5 и 5 нг/мл [5]. Вклад мелатониновых рецепторов в реализацию эффектов гормона определяли с использованием для мембранных рецепторов соответствующих антагонистов – неселективного (лузиндол – для MT1/MT2) и селективного (4-P-PDOT – для MT2), а для ядерного мелатонинового рецептора RORa – малых интерферирующих РНК (siRNA: трех типов RORa-специфичных siRNA и скремблированной siRNA в качестве негативного контроля). Статистический анализ проводили с использованием парного *t*-критерия Стьюдента.

Внесение неселективного блокатора мембранных мелатониновых рецепторов отменяло стимулирующее действие эндогенного гормона при анализе как содержания CD4⁺RORγ⁺ Т-клеток (контроль – 2,55±0,18, с блокадой лузиндолом – 1,60±0,18, *p*<0,05), так и уровня IL-17A (контроль – 281,07±113,91, с блокадой лузиндолом – 199,74±89,52, *p*<0,05). Уровень эндогенного мелатонина в сыворотке составлял 27,10±7,59 пг/мл.

Внесение блокаторов мембранных мелатониновых рецепторов отменяло стимулирующее действие экзогенного мелатонина при анализе уровня IL-17A. Эффект был более выраженным при неселективной блокаде MT1/MT2 (содержание IL-17A, пг/мл, при концентрации мелатонина 0,5 нг/мл: контроль – 1672,39±252,21, с блокадой MT1/MT2 (лузиндол) – 906,58±167,31, *p*<0,05; при концентрации мелатонина 5 нг/мл: контроль – 1613,91±279,35, с блокадой MT1/MT2 (лузиндол) – 895,78±204,60, с блокадой MT2 (4-P-PDOT) – 1034,32±243,04, *p*<0,05). По-видимому, это связано с тем, что мелатонин реализует свое действие в большей степени через MT1 рецептор, поэтому 4-P-PDOT, имеющий значительно более высокое сродство к MT2 рецептору (>300 раз), оказывал влияние в меньшей степени, чем лузиндол. В изменении процентного содержания CD4⁺RORγ⁺-клеток при блокаде мембранных мелатониновых рецепторов также отмечена тенденция к снижению доли RORγ⁺-позитивных Т-лимфоцитов под воздействием как неселективного, так и селективного антагонистов для соответствующих концентраций гормона без блокаторов.

При подавлении экспрессии внутриклеточного рецептора RORa все три варианта исполь-

зованных siRNA показали свою эффективность (CD4⁺RORa⁺ клетки, %: контроль – 1,10±0,27, siRNA A – 0,77±0,16; siRNA B – 0,87±0,25; siRNA C – 0,82±0,18). На фоне подавления экспрессии RORa происходило снижение уровня CD4⁺RORγ⁺ клеток в культуре при действии экзогенного мелатонина (CD4⁺RORγ⁺ клетки, %: siRNA A контроль – 2,20±0,36, siRNA A при концентрации мелатонина 0,5 нг/мл – 1,48±0,38, *p*<0,05, siRNA A при концентрации мелатонина 5 нг/мл – 1,17±0,38, *p*<0,05). Эти данные указывают на то, что RORa-зависимые эффекты мелатонина являются стимулирующими для Th17.

Таким образом, в реализации эффектов гормона в отношении регуляции Th17 принимают участие как мембранные, так и ядерные рецепторы. Причем эффекты эндогенного гормона в низких физиологических концентрациях опосредуются MT1/MT2-сигналами, тогда как действие фармакологических концентраций экзогенного мелатонина – и MT1/MT2-, и RORa-сигналами, и имеют дозозависимость.

Исследование выполнено в рамках гранта РФФИ № 16-34-60094 мол_а_дк и государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353248.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mahmood D. Pleiotropic Effects of Melatonin. Drug Res (Stuttg). 2019, 69(02), 65–74.
2. Куклина Е. М., Глебездина Н. С., Некрасова И. В. Роль мелатонина в контроле дифференцировки Т-лимфоцитов, продуцирующих интерлейкин-17 (Th17). Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. 160; 11, 604–607. [Kuklina E. M., Glebezina N. S., Nekrasova I. V. Role of Melatonin in the Regulation of Differentiation of T Cells Producing Interleukin-17 (Th17). Bull Exp Biol Med. 2016. 160, 5, 656–658].
3. Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. Scand J Immunol. 2011. 74(1), 1–13.
4. Slominski R. M., Reiter R. J., Schlabritz-Loutsevitch N., Ostrom R. S., Slominski A. T. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: distribution and functions. Molecular and Cellular Endocrinology. 2012. 351(2), 152–166.
5. Gooneratne N. S., Edwards A. Y., Zhou C., Cuellar N., Grandner M. A., Barrett J. S. Melatonin pharmacokinetics following two different oral surge-sustained release doses in older adults. J. Pineal Res. 2012. 52, 4, 437–445.

**CONTRIBUTION OF DIFFERENT TYPES OF MELATONINE RECEPTORS
TO HORMONE-DEPENDENT REGULATION OF T LYMPHOCYTES
PRODUCING IL-17 (TH17) DIFFERENTIATION**

© 2019 N. S. Glebezdina^{1*}, I. V. Nekrasova¹, A. A. Olina²,
G. K. Sadykova³

*E-mail: glebezdina_n@mail.ru

¹IEGM UB RAS, Perm, Russia;

²D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology,
St. Petersburg, Russia;

³Perm State Medical University named after E. A. Wagner of the Ministry
of Healthcare of the Russian Federation, Perm, Russia

Received: 28.02.2019. **Accepted:** 18.03.2019

The involvement of different types of melatonin receptors in hormone-dependent regulation of the differentiation of T helpers producing IL-17 (Th17) was studied. It has been shown that in low physiological concentrations melatonin realized effects through membrane receptors, whereas the action of the hormone's pharmacological concentrations was mediated by both membrane and nuclear receptors and was dose dependent.

Key words: T lymphocytes, Th17, melatonin, melatonin receptors, MT1, MT2, RORa

Authors:

Glebezdina N. S., ✉ PhD, Junior Researcher, Laboratory of Immunoregulation, IEGM UB RAS, Perm, Russia;

E-mail: glebezdina_n@mail.ru

Nekrasova I. V., PhD, Researcher, Laboratory of Immunoregulation, IEGM UB RAS, Perm, Russia;

Olina A. A., DMedSc, Deputy Director for Development of D. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia;

Sadykova G. K., PhD, Assistant Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Perm State Medical University named after E. A. Wagner of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Perm, Russia.