

5. Якушева М. Ю., Сергеева М. В. Проблемы оценки состояния здоровья населения, проживающего в климатических условиях Крайнего Севера // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2008. – № 3(23). – Ч. 2. – С. 393-394.
6. Smith H. S., Bjerregaard P., Hing Man Chan, Coriveau A., Ebbesson SOE, Etzen R. A., Fabsitz R. R., Hakonarson H., Hild C., Nobmann E. D., Reading J., Tereshchenko L., T. Kue Yong, Howard B. V. Research with Arctic people: unique research opportunities in heart, lung, blood and sleep disorders// Int J Circumpolar Health. 2006. Vol.65 (1). Pp. 79-90.

THE FEATURES OF IMMUNOLOGICAL REACTIVITY OF WOMEN YAMALO-NENETS AUTONOMOUS DISTRICT

Morozova O. S., Kabbani M. S.

*FSBIS Federal Research Center of Complex Arctic Studying named by academician N.P. Laverov RAS,
Institute of Physiology of Natural Adaptations, Arkhangelsk, Russia*

Conducted the expedition in the town of Nadym in Yamalo-Nenets Autonomous district (April, 2015). We examined 30 women, aged 40-64 living in the city of Nadym in Yamalo-Nenets Autonomous district. Immunological studies conducted in the laboratory of physiology of immunocompetent cells of the Institute of physiology of natural adaptations, VICKIE RAS, Arkhangelsk. In the peripheral blood were determined: the concentration of the phenotypes of lymphocytes CD16⁺, CD25⁺, CD71⁺, CD95⁺, HLADR⁺, the total number of leukocytes. The surveyed women in the city of Nadym in Yamalo-Nenets Autonomous district finds a reduction in the reserve capacity of the immune homeostasis due to the increased cytotoxic activity (CD16⁺) and apoptosis (CD95⁺) 56,66±2,49 and of 36,66±2,00 %, respectively.

Key words: North, incidence, phenotypes of lymphocytes

ВЛИЯНИЕ ГЕКСАПЕПТИДА АРГИНИЛ-АЛЬФА- АСПАРТИЛ-ЛИЗИЛ-ВАЛИЛ-ТИРОЗИЛ-АРГИНИНА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ТРАНСФОРМИРОВАННЫЙ В СИСТЕМЕ *IN VITRO* ФЕНОТИП НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Нестерова И. В., Хайдуков С. В.¹, Нгуен Т. З. А., Ронжина А. Н.

*ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; ¹ФГБУН Институт
биоорганической химии им. Академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
Москва, Россия*

В эксперименте *in vitro* создана модель трансформированного фенотипа нейтрофильных гранулоцитов (НГ) условно-здоровых лиц, оснащенных рецепторами CD64, CD32, CD16, CD11b, под влиянием fMLP. Описаны особенности трансформации фенотипа НГ. В системе *in vitro* исследовано влияние гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ГП) на нетрансформированный и трансформированный фенотип НГ. Показано, что fMLP повышает количество НГ, экспрессирующих рецептор CD64, повышает плотность экспрессии рецептора CD11b, и умеренно уменьшает количество НГ, несущих CD32 рецептор. При этом ГП, практически, не влияет на количество НГ, несущих рецепторы CD64, CD32, CD16, CD11b и уровень их экспрессии. В тоже время при одновременной инкубации НГ с fMLP и ГП, показано нивелирование эффектов fMLP: снижается количество CD64⁺ НГ, уменьшается плотность экспрессии CD11b, несколько уменьшается количество НГ, несущих рецептор CD32. В целом, полученные результаты демонстрируют классический иммуномодулирующий эффект ГП: с одной стороны – отсутствие каких-либо изменений изучаемых рецепторов НГ под его влиянием и нивелирование трансформационных изменений фенотипических характеристик НГ, возникших под влиянием fMLP.

Ключевые слова: нейтрофилы, трансформированный фенотип, fMLP

Нейтрофильные гранулоциты (НГ) – мультипотентные клетки иммунной системы (ИС). НГ активно реализуют противомикробную защиту не только посредством фагоцитоза, формирования NET и экзосом, но и оказывая сложные регуляторные влияния на функционирование защитных механизмов врожденной и адаптивной ИС. В настоящее время убедительно показано существование множества субпопуляций НГ, с различным фенотипом и разными свойствами. Каждый фенотип НГ имеет свой профиль экспрессии сотен разнообразных рецепторов на поверхностной клеточной мембране, обладает различными свойствами и способен, как стимулировать, так и супрессировать активность многих клеток ИС. НГ пластичны и их фенотип может трансформироваться, изменяя свои свойства, под влиянием микроокружения (хемокины, цитокины, бактерии, вирусы и т.д.). Фагоцитарная и микробицидная функции НГ также находятся в непосредственной зависимости от их фенотипических особенностей [1-3]. Полноценная реализация фагоцитарной и микробицидной активности НГ тесно связана с определенной группой поверхностных мембранных белков CD11b, CD16, CD32, CD64, формирующих определенный фенотип НГ. CD11b – интегрин, трансмембранный гетеродимерный рецептор НГ для CR3b компонента комплемента, рецептор адгезии и маркер фагоцитоза. Блокирование CD11b приводит к дефекту активации Fcγ рецепторов и нарушению фагоцитарной функции [2-3]. CD16 (FcγRIII)-рецептор отвечает за цитотоксическую функцию НГ. НГ с высокой экспрессией CD16 активируют дегрануляцию, респираторный взрыв, провоспалительный фенотип НГ. CD16 способен усиливать FcγRII-опосредованную интернализацию и функционировать совместно с CD11b/CD18. Субпопуляция незрелых НГ с минимизированной функциональной активностью характеризуется отсутствием CD16 на поверхностной мембране. [2-3]. CD32 (FcγRII) – цитоплазматический иммунорецептор активации тирозина, опосредующий множество функций, включая эндоцитоз, стимуляцию секреторной активности, цитотоксических и иммуномодулирующих функций НГ [4]. CD64 (FcγRI) – рецептор семейства Fcγ, практически, не экспрессируется на мембране НГ периферической крови здоровых лиц, а только на активированных НГ. Повышение

экспрессии CD64 на мембране НГ происходит при бактериальной инфекции [5]. В тоже время, вопросы экспериментальной трансформации и моделирования фенотипа НГ остаются мало изученными и представляют определенный интерес для разработки новых подходов к коррекции дисфункций НГ.

Цель исследования: создание экспериментальной модели трансформированного фенотипа НГ, одновременно экспрессирующих CD64, CD32, CD16, CD11b молекулы, для оценки влияния гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина на трансформированный фенотип НГ.

Материалы и методы. Исследованы НГ периферической крови 10 условно-здоровых лиц обоего пола в возрасте от 26 до 66 лет. Оценка экспрессии рецепторов на мембране НГ проводилась методом проточной цитометрии с использованием проточного цитофлуориметра FC 500 («Beckman Coulter», США) и конъюгатов моноклональных антител CD64-FITC, CD32-PE, CD16-ECD, CD11b-PC5 («Beckman Coulter International S. A.», Франция). Оценивали количество НГ(%), экспрессирующих мембранные CD64, CD32, CD16, CD11b рецепторы и интенсивность их экспрессии по MFI (значение интенсивности флуоресценции).

Для создания в системе *in vitro* экспериментальной модели трансформированного фенотипа НГ, одновременно экспрессирующих CD64⁺, CD32⁺, CD16⁺, CD11b⁺ молекулы, на 1 этапе цельную кровь инкубировали с N-формил-метионил-лейцил-фенилаланином (fMLP) в конечной концентрации $7 \cdot 10^{-7}$ М (0,033 г/л), в течение 1ч при температуре 37°C, далее оценивали особенности трансформирования фенотипа НГ (fMLP – бактериальный пептид, тканевых бактерий, активатор фагоцитоза, дегрануляции НГ, формирования активных форм кислорода, азота). На 2 этапе оценивали в системе *in vitro* влияние гексапептида аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинина (ГП) в конечной концентрации 10^{-6} г/л на НГ условно-здоровых лиц в течение 1 часа при температуре 37°C на неизмененный фенотип НГ, экспрессирующих мембранные CD64⁺, CD32⁺, CD16⁺, CD11b⁺ (ГП обладает иммуномодулирующей активностью, влияя, преимущественно, на Т-лимфоциты, способен инактивировать свободные радикалы, перекисное окисление липидов). На 3-м этапе оценивали совместное влия-

ние fMLP в конечной концентрации 7.10^{-7} М (0,033 г/л) и ГП в конечной концентрации 10^{-6} г/л на фенотип НГ условно-здоровых лиц, экспрессирующих мембранные CD64⁺, CD32⁺, CD16⁺, CD11b⁺ в течение 1 часа при температуре 37°C. В качестве контроля использовалось определение экспрессии мембранных CD64⁺, CD32⁺, CD16⁺, CD11b⁺ НГ у 10 условно-здоровых лиц. Проведена адекватная статистическая обработка полученных данных.

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных продемонстрировал, что у условно-здоровых лиц под влиянием fMLP происходит выраженная трансформация фенотипа НГ: увеличивается количество CD64⁺ НГ в 2.9 раза с 1.1 % [0,4;4,0] до 3.2 % [0,8;7,3], но при этом не меняется плотность экспрессии молекул CD64; умеренно уменьшается количество CD32⁺ НГ с 95.3 % [56,6;99,5] до 86.0 % [33,9;98,4] с умеренным снижением экспрессии CD32 по MFI; 100 % НГ позитивны по CD11b, что не отличается от контроля, но при этом отмечается значительное, в 1,7 раза, повышение плотности экспрессии молекул CD11b на мембране НГ по MFI с 39,3 [30,0;58,4] до 68,4 [58,3;90,1]; количество CD16⁺ НГ и плотность экспрессии мембранных молекул CD16 не отличались от контроля. Оценка влияния ГП на НГ условно-здоровых лиц на 2-м этапе исследования продемонстрировала отсутствие изменений по сравнению с контролем: количество НГ экспрессирующих молекулы CD64, CD32, CD16, CD11b и уровень их экспрессии не изменились. Анализ одномоментного комбинированного воздействия fMLP и ГП на 3-м этапе исследования показал нивелирование эффектов fMLP под влиянием ГП. Так, под влиянием ГП уменьшилось количество CD64⁺ НГ с 3,2 % [0,8;7,3] до 2,4; [0,9;8,1], достоверно снизилась плотность экспрессии молекул CD11b с 68,4 [58,3;90,1] до 56.8 [52,4;80,5] по MFI ($p \leq 0,001$), однако, при этом не корректировалось негативное влияние fMLP на количество CD32⁺ НГ и уровень экспрессии молекул CD32.

Обобщая полученные данные, можно прийти к заключению, что в системе *in vitro* создана экспериментальная модель трансформирован-

ного фенотипа НГ, одномоментно экспрессирующих CD64⁺, CD32⁺, CD16⁺, CD11b⁺ молекулы: бактериальный пептид fMLP способствует трансформации фенотипа НГ, влияя в большей степени на количество НГ, экспрессирующих CD64, значительно повышает уровень экспрессируемых мембранных молекул CD11b и незначительно снижает количество CD32⁺ НГ и уровень экспрессии молекул CD32. Полученные результаты демонстрируют классический иммуно-модулирующий эффект ГП, который проявился с одной стороны при его моно-воздействии на нетрансформированный фенотип НГ здоровых лиц – отсутствие каких-либо изменений изучаемых рецепторов НГ, и с другой стороны – нивелирование трансформационных изменений фенотипических характеристик НГ, возникших под влиянием бактериального пептида fMLP.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нестерова И. В., Колесникова Н. В., Чудилова Г. А., Ломтатидзе Л. В., Ковалева С. В., Евглевский А. Е. Нейтрофильные гранулоциты: новые роли старых игроков. // Иммунология. – 2015. – Т. 36, № 4. – С. 257-265.
2. Нестерова И. В., Чудилова Г. А., Ломтатидзе Л. В., Ковалева С. В., Колесникова Н. В., Авдеева М. Г., Русинова Т. В. Дифференцированность вариантов субпопуляций трансформированного фенотипа CD16⁺CD11b⁺ нейтрофильных гранулоцитов при острой вирусной и острой бактериальной инфекциях. // Иммунология. – 2016. – Т.37, № 4. – С. 199-204.
3. Т. Б. Абакумова, И. И. Антонева, Т. П. Генинг [и др.]. Фенотип нейтрофилов периферической крови на начальной стадии рака тела матки. // Цитология. – 2016. – Т. 58, № 1. – С. 23-29.
4. Parren P. W., Warmerdam P. A., Boeije L. C., Arts J., Westerdaal N. A., Vlug A., Capel P. J., Aarden L. A., van de Winkel J. G. On the Interaction of IgG Subclasses with the Low Affinity FcγR1a (CD32) on Human Monocytes, Neutrophils, and Platelets. // J Clin Invest. – 1992. – V.90, N4. – P. 1537-1546.
5. Shan Li, Xiamei Huang, Zhiping Chen, Huizhi Zhong, Qiliu Peng, Yan Deng, Xue Qin, Jinmin Zhao. Neutrophil CD64 expression as a biomarker in the early diagnosis of bacterial infection: a meta-analysis. // International Journal of Infectious Diseases. – 2013. – V.17, Is.1. – P.e12–e23.

INFLUENCES OF HEXAPEPTIDE ARGINYL-ALPHA-ASPARTYL-LIZIL-VALYL-TYROSIL-ARGININ ON THE TRANSFORMED PHENOTYPE OF NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF HEALTHY PERSONS IN THE EXPERIMENTAL SYSTEM *IN VITRO*

Nesterova I. V., Khaidukov S. V., Nguyen T. D. L., Ronzhina A. N.

The experimental model of the *in vitro* transformed phenotype of neutrophilic granulocytes (NG) equipped with receptors CD64, CD32, CD16, CD11b, was created under the influence of fMLPs. The features of the transformed phenotype of NG were described. The influence of the Hexapeptide arginyl-alpha-aspartyl-lysyl-poured-tyrosyl-arginine (HP) on untransformed and transformed phenotype of NG was investigated *in vitro*. It was shown that fMLP increases the number of NG, expressing the receptor CD64, increases the density of expression of the receptor CD11b, and moderately reduces the amount of CD32⁺ NG. HP does not influence on the number of NG, bearing receptors CD64, CD32, CD16, CD11b, and the level of their expression. At the same time with simultaneous incubation with fMLP NG and HP, are shown to mitigate the effects of fMLP: reduced the number of CD64⁺ NG, reduced the density of CD11b expression, decreases in the number of NG bearing a receptor CD32. Overall, the results demonstrate the classic immunomodulatory effect HP: on the one hand, the absence of any change in the studied receptors of NG under his influence and leveling the transformational changes of phenotypic characteristics of NG, which arose under the influence of fMLP.

Key words: neutrophils, the transformed phenotype, fMLP

РОЛЬ МОНОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ В ДИНАМИКЕ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭЛАСТИНОВОГО БИОМАТЕРИАЛА

Нигматуллин Р. Т., Гизатулина Э. Р., Мотыгуллин Б. Р.

ФГБУ Всероссийский центр глазной и пластической хирургии
Минздрава России, Уфа, Россия

В статье представлены результаты морфологических исследований при подкожной трансплантации двух видов эластинового биоматериала: структурированного и диспергированного (патент № 2440148). Эксперименты выполнены на крысах породы Вистар (n=59). Трансплантируемые биоматериалы подвергаются поэтапной резорбции с формированием соединительнотканного регенерата. При этом клетки макрофагальной и фибробластического дифферонов выступают как единая морфофункциональная система, обязательным элементом которой являются гигантские многоядерные клетки. В зависимости от структуры биоматериала выделены два гистотопографических типа заместительной регенерации: фронтальный для структурированного и диффузно-локунарный – для диспергированного.

Ключевые слова: эластиновый биоматериал, макрофаги, гигантские многоядерные клетки

Актуальность и цель работы. В современной клинической медицине значительное место занимают различные виды биоматериалов, используемые при выполнении реконструктивных операций. Регистрация подобных транс-

плантатов требует проведения протокольных доклинических испытаний. Публикации последних лет указывают на повышенный интерес исследователей к биоматериалам на основе эластина [1, 2, 3]. Авторы отмечают, что данные