

- inhibits human neutrophil and human airway smooth muscle migration. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, 1822(10), 1638-1642.
3. Radford D. J., Wang K., McNelis J. C., Taylor A. E., Hechenberger G., Hofmann J., Chahal H., Arlt W.,

Lord J. M. Dehydroepiandrosterone sulfate directly activates protein kinase C-beta to increase human neutrophil superoxide generation. *Mol. Endocrinol.* 2010, 24(4), 813-821. doi: 10.1210/me.2009-0390. Epub 2010 Feb 19.

## EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE ON THE LUMINOL-DEPENDENT CHEMILUMINESCENCE RESPONSE UNDER ZYMOBAN-INDUCED PERITONITIS IN OLD RATS

Shilov S. Ju.<sup>1,2</sup>, Shilov Ju. I.<sup>1,2</sup>, Barkov S. Ju.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the UB RAS; <sup>2</sup>Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University, Perm, Russia

It was established that level of the luminol-dependent chemiluminescence reaction in old male rats under zymosan-induced peritonitis was higher in comparison with young rats. The introduction of dehydroepiandrosterone to the old rats results in a marked decrease in the luminol-dependent chemiluminescence with peritoneal cells.

*Key words:* dehydroepiandrosterone, inflammation, aging, luminol-dependent chemiluminescence

## РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НК-КЛЕТОК ГОРМОНАМИ РЕПРОДУКЦИИ

Ширшев С. В., Некрасова И. В., Горбунова О. Л., Орлова Е. Г., Масленникова И. Л.

ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

Исследовано влияние гормонов репродукции на фенотипические характеристики, продукцию цитокинов и уровень литической активности естественных киллерных (НК)-клеток. Изучена роль микроРНК в гормональных механизмах формирования регуляторных и цитотоксических субпопуляций НК-клеток при беременности. В результате проведенной работы удалось выявить новые физиологические механизмы эндокринного контроля НК-клеток иммунной системы матери, которые могут реализовываться в разные периоды беременности.

*Ключевые слова:* гормоны, НК-клетки, цитокины, микроРНК

Естественные киллерные (НК) клетки представляют собой популяцию лимфоцитов врожденного иммунитета, способных к проявлению цитотоксической, а также регуляторной активности. Кроме того, данные клетки имеют решающее значение для нормального развития беременности [1]. Они продуцируют цитокины, хемокины, ферменты, факторы роста сосудов, тем самым способствуя формированию и мо-

делированию спиральных артерий, плацентации и регуляции инвазии трофобласта [2]. Фетотрофические функции НК-клеток проявляются под воздействием специфических регуляторных сигналов, к которым, в первую очередь, можно отнести гормоны фетоплацентарного комплекса.

**Цель исследования** – изучить влияние хорионического гонадотропина (ХГ), кисспеп-

тина, эстриола ( $E_3$ ), лептина и грелина в концентрациях, соответствующих их уровням в периферической крови во время физиологически протекающей беременности на функциональную активность НК-клеток.

**Материалы и методы исследования.** Работа проведена на НК-клетках, выделенные из периферической крови женщин репродуктивного возраста методом иммуномагнитной сепарации. Гормоны использовали в физиологических концентрациях, соответствующих разным триместрам беременности. Для стимуляции развития НК-клеток при культивировании *in vitro* использовали интерлейкины (IL)-2, IL-12 и IL-15. НК-клетки культивировали в полной питательной среде в присутствии гормонов в течение 3-х суток, после чего оценивали их фенотип (NKp46, NKG2A, CD62L) методом проточной цитометрии. В клеточных супернатантах иммуноферментным методом определяли уровень IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ , IL-17. Методом RT-qPCR оценивали экспрессию микроРНК (hsa-miR-155, hsa-miR-29a, hsa-miR-30c-1\*, hsa-miR-378b) в сепарированных НК-клетках.

**Результаты исследования.** ХГ, вносимый в культуры фракционированных НК-клеток в концентрации, свойственной I триместру беременности (100 МЕ/мл), усиливает экспрессию молекул CD62L, определяющих распределение клеток в маточно-плацентарной зоне, и достоверно угнетает секрецию abortогенного цитокина IFN- $\gamma$ . При этом, гормон снижает внутриклеточный уровень перфорина и гранзима В. Это действие сопряжено с повышенным содержанием miR-30c-1\*, которая стимулирует цитолитический потенциал НК-клеток, что, по-видимому, препятствует регулируемому действию гормона на экспрессию ингибиторной молекулы NKG2A и противовоспалительного цитокина TGF- $\beta$ . В концентрации, характерной для III триместра беременности (10 МЕ/мл), ХГ не влияет на экспрессию CD62L, но достоверно увеличивает число клеток, экспрессирующих молекулу NKG2A. При этом отменяется угнетающий эффект на экспрессию перфорина с реципрокной регуляцией гранзима В и А. Гормон существенно усиливает секрецию TGF- $\beta$  и одновременно снижает уровень продуцируемых цитокинов IL-4, IL-10, IL-17 и, что наиболее важно, – IFN- $\gamma$ . Данные эффекты гормона сопровождаются снижением уровня miR-30c-1\*,

которая стимулирует продукцию IFN- $\gamma$  [3], и miR-29a, угнетающей синтез перфорина [4], что и служит механизмом отмены действия гормона, которым он обладает в концентрации I триместра беременности.

$E_3$  в концентрации, характерной для I триместра беременности (2 нг/мл), повышает число НК-клеток, экспрессирующих CD62L и NKG2A, не влияя на уровень перфорина и гранзимов. Гормон угнетает продукцию цитокинов, за исключением TGF- $\beta$ . Эффект  $E_3$  связан со снижением активирующей функцию НК-клеток miR-30c-1\*, miR-155 и стимулированием образования miR-378b, негативно регулирующей синтез гранзима В [5]. Аналогичные эффекты гормон может проявлять и в III триместре (20 нг/мл), дополнительно усиливая секрецию TGF- $\beta$ .

Лептин в концентрации 10 нг/мл (I триместр) не оказывает достоверного влияния на исследуемые показатели. Однако в концентрации 35 нг/мл (III триместр) гормон достоверно повышает число CD62L<sup>+</sup> НК-клеток и угнетает продукцию только IL-4 и IL-10. При этом лептин снижает экспрессию всех исследуемых микроРНК.

Грелин в концентрации, характерной для I триместра беременности (1,25 нг/мл), повышает внутриклеточный уровень гранзима А, не влияя на остальные показатели. При этом гормон достоверно снижает уровень miR-30c-1\*, miR-155, miR-29a. В концентрации, характерной для III триместра (0,83 нг/мл), грелин достоверно снижает секрецию IL-10 и уровень miR-155.

Киспептин в концентрации 4,6 пМ (I триместр) увеличивает экспрессию CD62L, что существенно именно для этого периода, и угнетает продукцию всех исследуемых цитокинов за исключением TGF- $\beta$ . Оценка влияния киспептина на микроРНК показала зависимость действия гормона от данного механизма регуляции. В III триместре (9,6 пМ) киспептин потенциально способен реализовать аналогичные эффекты, которые ему присущи в I триместре, дополнительно усиливая продукцию супрессорного цитокина TGF- $\beta$ . При этом прослеживается четкая зависимость регуляторного действия на уровне микро РНК.

Таким образом, можно утверждать, что исследуемые гормоны являются значимыми регуляторами функциональной активности НК-клеток иммунной системы мате-

ри в разные периоды беременности. Под их влиянием НК-клетки не только формируют пул маточных НК-лимфоцитов, но и трансформируются в регуляторный субтип NK3 (NKG2A<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>TGF- $\beta$ <sup>+</sup>) с пониженным цитолитическим потенциалом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 13-04-96035-р\_урал\_а.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vacca P., Moretta L., Moretta A., Mingari M. C. Origin, phenotype and function of human natural killer cells in pregnancy. *Trends Immunol.* 2011, 32, 517-523.
2. Koopman L. A., Korcow H. D., Rybalov B. et al. Human decidual natural killer cells are a unique NK subset with immunomodulatory potential. *J. Exp. Med.* 2003, 198, 1201.
3. Trotta R., Chen L., Ciarlariello D. et al. miR-155 regulates IFN- $\gamma$  production in natural killer cells. *Blood* 2012, 119(15), 34783485.
4. Elemam N. M., Mekky R. Y., El-Ekiaby N. M. et al. Repressing PU.1 by miR-29a in NK cells of HCV patients, diminishes its cytolytic effect on HCV infected cell models. *Hum. Immunol.* 2015, 76, 687-694.
5. Wang P., Gu Y., Zhang Q. et al. Identification of resting and type I IFN-activated human NK cell miRNomes reveals microRNA-378 and microRNA-30e as negative regulators of NK cell cytotoxicity. *J. Immunol.* 2012, 189, 211-221.

### REGULATION OF NK CELLS FUNCTIONAL ACTIVITY BY REPRODUCTIVE HORMONES

Shirshov S. V., Nekrasova I. V., Gorbunova O. L., Orlova E. G., Maslennikova I. L.

*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Russian Academy of Science, Ural Branch, Perm, Russia*

The influence of reproductive hormones on phenotypic characteristics, cytokine production and the level of lytic activity of natural killer (NK) cells was studied. The role of miRNAs in the hormonal mechanisms of formation of regulatory and cytotoxic NK cells subpopulations during pregnancy was investigated. The new physiological mechanisms of endocrine control of mother's immune system NK cells that can be implemented in different periods of pregnancy were identified as a result of this work.

*Key words:* hormones of pregnancy, NK cells, microRNA, cytokines

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОДУКТОВ НЕЙТРОФИЛОВ, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ПОДВЕРГШИХСЯ МОДЕЛИРОВАННОМУ НИЗКОИНТЕНСИВНОМУ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ, НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ

Шишкова Ю. С., Даровских С. Н., Вильданова О. Р., Бабикова М. С.

*ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», Челябинск, Россия*

В настоящем исследовании проведен анализ влияния моделированного микроволнового электромагнитного излучения на антибиопленкообразующую активность секреторных продуктов нейтрофилов. Установлено, что электромагнитное излучение как техногенное, так и природное оказывает воздействие на функционирование клеток врожденного иммунитета. Эти данные открывают перспективы в коррекции дисбиозов.

*Ключевые слова:* нейтрофилы, биопленки, ЭМИ