

**МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТЫ  
ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА  
НА ТРАНСФОРМИРОВАННЫЙ ФЕНОТИП СУБПОПУЛЯЦИИ  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$  НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ  
С ХРОНИЧЕСКИМИ ГЕРПЕС-ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ  
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO***

© 2018 г. И. В. Нестерова<sup>1</sup>, Т. З. Л. Нгуен<sup>1</sup>, Е. О. Халтурина<sup>2</sup>,  
С. В. Хайдуков<sup>3</sup>, С. В. Гурьянова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава РФ, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт биоорганической химии им. Академиков М. М. Шемякина  
и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

Поступила: 15.05.2018. Принята: 25.06.2018

Наше исследование фокусирует внимание на трансформированном фенотипе нейтрофильных гранулоцитов (НГ), экспрессирующих рецепторы  $IFN\alpha/\beta R1$ ,  $IFN\gamma R$  (CD119), TLR4, выявляемом у пациентов с различными хроническими герпес-вирусными инфекциями (ХГВИ) и изучении возможности регуляции негативно измененного фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$  НГ периферической крови этих пациентов под влиянием глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП) в системе *in vitro*. Описаны особенности трансформированного фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$  НГ пациентов с ХГВИ в сравнении с нетрансформированным фенотипом этой субпопуляции НГ условно-здоровых лиц. Показано, что в группе пациентов с ХГВИ процент НГ, несущих молекулы  $IFN\alpha/\beta R1$  и  $IFN\gamma R$ , достоверно выше, чем в контрольной группе условно-здоровых лиц. Продемонстрировано, что количество TLR4<sup>+</sup>НГ у пациентов с ХГВИ имело место четкое разделение TLR4<sup>+</sup>НГ на две группы, показатели которых различались между собой с высокой степенью достоверности различий и достоверно отличались от уровня TLR4<sup>+</sup>НГ контрольной группы. При этом в одной группе число НГ, экспрессирующих рецепторы к TLR4, было ниже чем в контрольной группе условно-здоровых лиц, а в другой группе — выше. У пациентов с ХГВИ под влиянием ГМДП количество НГ, экспрессирующих на поверхностной мембране рецепторы к  $IFN\alpha/\beta R1$  и  $IFN\gamma R$  уменьшилось. Снизилось также число TLR4<sup>+</sup>НГ обеих групп до одного уровня, который был существенно ниже, чем в контрольной группе. Кроме того, ГМДП достоверно увеличил плотность экспрессии молекул  $IFN\alpha/\beta R1$  на мембране НГ, умеренно уменьшил плотность экспрессии  $IFN\gamma R$ , и не изменил плотность экспрессии TLR4 на НГ у пациентов с ХГВИ.

**Ключевые слова:** нейтрофильные гранулоциты, хронические герпес-вирусные инфекции, глюкозаминилмурамилдипептид, эксперимент *in vitro*, фенотипические трансформации

DOI: 10.31857/S102872210002414-0

**Адрес:** 117513, г. Москва, Ленинский проспект, 123—1 Нестерова Ирина Вадимовна.

Телефон: 8 916 187 73 41; E-mail: inesterova1@yandex.ru.

**Авторы:**

**Нестерова И. В.**, д. м. н., профессор кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР Медицинского института, ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России, Москва, Россия;

**Нгуен Т. З. Л.**, аспирант кафедры аллергологии и иммунологии ФПК МР Медицинского института, ФГАБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки России, Москва, Россия;

**Халтурина Е. О.**, к. м. н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый медицинский государственный московский университет имени И. М. Сеченова, Минздрава РФ, Москва, Россия;

**Хайдуков С. В.**, д. б. н., научный сотрудник отдела химической биологии гликанов и липидов, ФГБУН «Институт биоорганической химии им. Академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия;

**Гурьянова С. В.**, к. б. н., научный сотрудник лаборатории химии пептидов ФГБУН «Институт биоорганической химии им. Академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия.

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие во всем мире значительно возрос интерес ученых к созданию иммуностимулирующих субстанций, способных усиливать противомикробную защиту, осуществляемую иммунной системой. При этом особая роль отводится изучению регуляции функционирования нейтрофильных гранулоцитов (НГ) — мультипотентных эффекторных клеток иммунной системы, дисфункции которых ведут к возникновению различных иммунозависимых заболеваний. НГ обеспечивают первую линию клеточной защиты от бактериальной, вирусной и грибковой инфекции. В ответ на контакты с патогенами НГ используют многочисленные механизмы: экспрессируют рецепторы, активируют фагоцитарную функцию, процессы дегрануляции и высвобождение активных форм кислорода, образование NET, повышают продукцию и секрецию воспалительных цитокинов [1–4]. НГ оснащены большим количеством поверхностных мембранных рецепторов, каждый из которых обладает различными индивидуальными свойствами. Толл-подобные рецепторы (TLRs), в частности, TLR4, экспрессирующиеся на поверхностной мембране НГ, распознают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны РНК и ДНК вирусов. Рецепторы к интерферонам (ИФН) I (IFN $\alpha$ / $\beta$ R1, IFN $\alpha$ / $\beta$ R2) и II типа (IFN $\gamma$ R), локализуясь на поверхностной мембране НГ, связывают, секретируемые эпителиальными клетками после контакта с респираторными и герпес-вирусами, IFN $\alpha$  и IFN $\beta$  и запускают сигналинг, приводящий к экспрессии в ядре НГ, генов ответственных за синтез IFN $\alpha$  и IFN $\beta$ . IFN $\alpha$  активирует Т-хелперы и естественные киллерные клетки, и индуцирует в них продукцию IFN $\gamma$  [5–7]. В иммунном ответе на патогены ИФН $\alpha$ / $\beta$  обладают прямым и опосредованным противовирусным действием, именно поэтому их иногда называют вирусными ИФН. ИФН $\gamma$  — регуляторный цитокин обладает опосредованным противовирусным действием: активирует и регулирует клеточные механизмы противовирусной иммунной защиты. От полноценности функционирования НГ и системы ИФН, их взаимодействия, особенно на первых этапах контакта с вирусами, и от агрессивных свойств самих вирусов, зависит исход многих вирусных инфекций. При хронических, упорно-рецидивирующих и персистирующих герпес-вирусных инфекциях, вызываемых ВЭБ, ЦМВ, ВЧГ6, ВПГ1, ВПГ2, ВОЛ описаны различные нарушения: дефицит индуцированной продукции

ИФН $\alpha$ / $\beta$  и ИФН $\gamma$ , дефекты функционирования НГ: приобретенные нейтропении, нарушения экспрессии некоторых мембранных рецепторов, фагоцитарные дисфункции, различные дефекты микробицидной системы — гранулоцитопатии, появление неполноценных субпопуляций НГ с низкой противовирусной, антибактериальной активностью, а также субпопуляций НГ-супрессоров. Детекция экспрессии рецепторов на мембранной поверхности НГ позволяет не только распознавать фенотип клеток, но и оценивать их функциональное состояние, как при нормальных физиологических, так и при различных патологических условиях. Анализ ранее проведенных исследований позволяет заключить, что ядерный аппарат НГ мгновенно реагирует на самые различные внешние стимулы изменением уровня реструктуризации хроматина и его биологической активности. Реструктуризация хроматина является предпосылкой для проявления матричной активности ДНК с последующим белковым синтезом. Полученные ранее данные свидетельствуют о том, что при воздействии на НГ в системе *in vitro* таких цитокинов как IFN $\gamma$ , G-CSF, TNF $\alpha$  или их комплекса происходят различные изменения фенотипа активированных НГ, ассоциированное с достоверным увеличением реструктуризации хроматина НГ. Кроме того, показано, что под влиянием IFN $\gamma$  у здоровых субъектов повышается уровень экспрессии генов IL-8, IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  относительно не индуцированного контроля, и при этом отмечается сильная прямая корреляционная связь между экспрессией генов, уровнем реструктуризации хроматина и трансформационными изменениями фенотипа НГ [8].

В связи с вышеизложенным, весьма важными с нашей точки зрения представляются вопросы позитивного трансформирования фенотипов различных субпопуляций НГ у пациентов с ХГВИ и коррекции их дефектной активности с помощью иммунорегуляторных пептидов. Это позволит в дальнейшем разрабатывать новые методы таргетных иммунотерапевтических воздействий на дефектно функционирующие НГ (дефицит количества НГ, дефектный фагоцитоз, негативные гиперэргические реакции, «парализис» — состояние неотвечаемости при контакте с микробным антигеном) при многих иммунозависимых заболеваниях. В этом определенным интерес представляет изучение влияния глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП), с доказанными иммуностимулирующими свойствами, на трансформированный фенотип IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>IFN $\gamma$ R<sup>+</sup>TLR4<sup>+</sup>НГ. ГМДП представляет собой основную структур-

ную единицу пептидогликана клеточной стенки бактерий, который связывается с цитозольными рецепторами NOD2 и YB1, запускает сигналинг, что в конечном итоге, приводит к повышению экспрессии генов провоспалительных цитокинов, инициирующих базисную воспалительную реакцию [9]. Известно, что воздействие ГМДП вызывает стимуляцию эффекторных функций фагоцитов (фагоцитоз, синтез активных форм кислорода, активацию микробицидных систем, презентация антигенов) [10], тем не менее влияния ГМДП на экспрессию мембранных рецепторов к  $IFN\alpha/\beta R1$ ,  $IFN\gamma R$ , TLR4 у пациентов с ХГВИ до настоящего времени остаются малоизученными. Таким образом, исследования дисфункций НГ у пациентов с вирусной инфекцией и оценка возможности их коррекции при использовании регуляторных пептидов, в том числе ГМДП, являются с нашей точки зрения перспективным направлением и представляют определенный интерес.

**Целью исследования** явилось изучение особенностей экспрессии поверхностных мембранных рецепторов НГ к ИФН $\alpha$  и ИФН $\beta$  ( $IFN\alpha/\beta R1$ ), ИФН $\gamma$  (CD119) и TLR4 (CD284) при различных хронических герпес-вирусных инфекциях и возможности модуляции негативно измененных фенотипов субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$ НГ периферической крови этих пациентов под влиянием глюкозаминил-мурамилдипептида в системе *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 99 образцов, полученных от 21 пациента, обоюго пола, в возрасте от 23 до 60 лет, страдающих хроническими моно- и микст-герпес-вирусными инфекциями (ХГВИ), в 45% и 55% случаев соответственно и от 15 условно-здоровых человек для контрольной группы, сопоставимых по полу и возрасту. Среди моно-инфекций преобладали ВПГ 2 тип – 33.3%; ВПГ 1 тип, ЦМВ, ВЭБ – по 22.2% каждая. Среди микст-инфекций лидировали сочетания ВЭБ+ЦМВ+ВЧГ6 тип – 36.4%; ВПГ1+ВЭБ – 27.3%; ВЭБ+ЦМВ – 18.2%. А сочетания ВПГ1/2+ВЭБ+ЦМВ и ВЭБ+ВЧГ6 тип встречались в 9.1% случаев. Для детекции герпес-вирусных инфекций применялись методы серо- и ПЦР диагностики. Геном вирусов выявляли в биоматериалах: кровь, слюна, моча, соскоб с миндалин и задней стенки глотки.

Проводилось определение фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$ НГ методом

проточной цитометрии с использованием проточного цитофлуориметра FC500 («Beckman Coulter», США) и конъюгатов моноклональных антител  $IFN\alpha/\beta R1$ -FITC, CD119-PE, TLR4-APC («Beckman Coulter International S.A.», Франция): количество (%) НГ экспрессирующих  $IFN\alpha/\beta R1$ ,  $IFN\gamma R$ , TLR4 с оценкой плотности экспрессии каждого рецептора на мембране НГ по уровню MFI, как в группе здоровых субъектов (группа контроля), так и в группе исследуемых. Далее образцы цельной крови пациентов с ХГВИ инкубировали с ГМДП в конечной концентрации 10–6 мг/мл, в течение 1 часа, при температуре 37°C и оценивали особенности трансформации фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$ НГ под влиянием ГМДП в системе *in vitro*. Результаты эксперимента сравнивали с данными, полученными в группе условно-здоровых лиц и данными, полученными при исследовании фенотипа НГ субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+IFN\gamma R^+TLR4^+$ НГ пациентов с ХГВИ.

Полученные результаты исследования были обработаны при помощи методов вариационной статистики и представлены в виде медианы и нижнего, верхнего квартиля (Me[Q1; Q3]), 95% доверительного интервала (95% ДИ) (референсные значения контроля). При анализе количественных признаков оценка достоверности различий между группами проводилась с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (КМУ). Различия, связи и зависимости считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Ввод данных в таблицах Microsoft Excel 2007. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных программ «IBM SPSS Statistic 20».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных продемонстрировал, что у условно-здоровых лиц (контрольная группа) количество неизмененных НГ, несущих рецептор  $IFN\alpha/\beta R1$  ( $IFN\alpha/\beta R1^+$ НГ) составило 2,50% [1,25; 3,55] с 95% ДИ: 1,14–3,79%; плотность экспрессии молекул  $IFN\alpha/\beta R1$  на мембранной поверхности НГ была равна 1,10 [1,08; 1,29] и 95% ДИ составил 1,09–1,23. В группе пациентов с ХГВИ процент  $IFN\alpha/\beta R1^+$ НГ составил 4,40% [2,20; 5,60], что выше в 1,76 раза, чем количество  $IFN\alpha/\beta R1^+$ НГ контрольной группы ( $p=0,004$ ); плотность экспрессии этого рецептора на НГ в группе пациентов с ХГВИ достоверно ниже, чем в контрольной группе и составила 1,08 [1,06; 1,23] ( $p=0,016$ ) (таб. 1, рис. 1).

В контрольной группе количество НГ, экспрессирующих молекулы CD119 на мембране (CD119<sup>+</sup>НГ) составило 20,10% [15,48; 27,10] с 95% ДИ равным 16,33–24,65%; MFI CD119<sup>+</sup>НГ составил 1,16 [1,13; 1,19] с 95% ДИ 1,14–1,18. У пациентов с ХГВИ число CD119<sup>+</sup>НГ составило 28,95% [24,45; 37,40], что выше, чем у лиц контрольной группы ( $p=0,022$ ). При этом плотность экспрессии рецепторов CD119 на мембране НГ по MFI в группе пациентов с ХГВИ была достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p=0,029$ ) и составила 1,19 [1,15; 1,22] (таб. 1, рис. 1).

Число НГ, несущих молекулы TLR4 (TLR4<sup>+</sup>НГ) условно-здоровых лиц (контрольной группы) составило 8,40% [6,50; 10,00], 95% ДИ составил 6,91–9,64%; MFI TLR4<sup>+</sup>НГ составила 1,14 [1,07; 1,16] с 95% ДИ: 1,14–1,20. По сравнению с контрольной группой количество TLR4<sup>+</sup>НГ у пациентов с ХГВИ разделилось на две группы: одна группа с более низким уровнем TLR4<sup>+</sup>НГ, – количество TLR4<sup>+</sup>НГ составило 6,20% [4,20; 7,00], что меньше чем в контрольной группе ( $p=0,028$ ); в другой группе количество TLR4<sup>+</sup>НГ было достоверно более высоким составило, чем в первой группе и составило 12,55% [9,75; 15,68], при этом оно было достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p=0,010$ ). Достоверность различий между этими двумя группами TLR4<sup>+</sup>НГ у пациентов была высокой и составила  $p=0,001$ . Плотность экспрессии молекул TLR4 на мембране НГ в обеих группах у пациентов с ХГВИ, практически, не отличилась между собой и от показателей

контрольной группы и составила 1,08 [1,07; 1,19] (таб. 1, рис. 1).

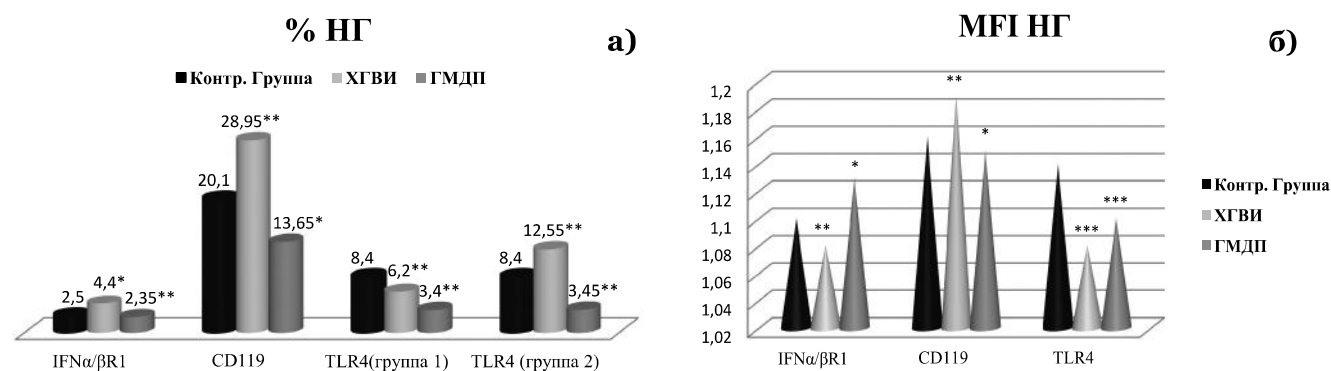
Проводилось инкубирование НГ периферической крови группы пациентов с ХГВИ в системе *in vitro* с ГМДП в конечной концентрации 10–6 мг/мл, в течение 1 часа, при температуре 37°C. Анализ результатов продемонстрировал, что под влиянием ГМДП число НГ из группы пациентов, несущих молекулы IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 уменьшилось с 4,40% [2,20; 5,60] до 2,35% [1,28; 4,50] ( $p=0,014$ ), что приблизилось к уровню контрольной группы. Плотность экспрессии рецепторов к IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 на поверхностной мембране НГ у пациентов с ХГВИ под влиянием ГМДП повысилась с 1,08 [1,06; 1,23] до 1,13 [1,08; 1,20] ( $p=0,001$ ) (таб. 1, рис. 1).

В группе пациентов с ХГВИ после инкубирования НГ с ГМДП количество НГ, несущих рецепторы к CD119 достоверно снизилось с 28,95% [24,45; 37,40] до 13,65% [8,45; 15,88] ( $p<0,001$ ); плотность экспрессии молекул CD119 на мембране НГ по MFI достоверно уменьшилась с 1,19 [1,15; 1,22] до 1,15 [1,13; 1,18] ( $p=0,006$ ), что не отличилось от уровня контроля (таб. 1, рис. 1).

Под влиянием ГМДП число TLR4<sup>+</sup>НГ группы с более низким уровнем у пациентов с ХГВИ снизилось с 6,20% [4,20; 7,00] до 3,40% [1,68; 5,53] ( $p=0,035$ ); в группе с более высоким количеством TLR4<sup>+</sup>НГ число TLR4<sup>+</sup>НГ снизилось с 12,55% [9,75; 15,68] до 3,45% [2,13; 6,48] ( $p=0,025$ ). Плотности экспрессии молекул TLR4 на мембране НГ в группе пациентов с ХГВИ после инкубации

**Таблица 1.** Модулирующий эффект глюкозаминилмурамилдипептида на измененный фенотип субпопуляции IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>IFN $\gamma$ R<sup>+</sup>TLR4<sup>+</sup>НГ в системе *in vitro*

Показатель		Контрольная группа (Контр) Me[Q1; Q3] 95% ДИ	ХГВИ Me[Q1; Q3]	р между ХГВИ и Контр	ХГВИ с ГМДП Me[Q1; Q3]	р между ХГВИ и ХГВИ с ГМДП
% НГ	IFN $\alpha$ / $\beta$ R1	2,50[1,25; 3,55] 1,14–3,79	4,40[2,20; 5,60]	0,004	2,35[1,28; 4,50]	0,014
	CD119	20,10[15,48; 27,10] 16,33–24,65	28,95[24,45; 37,40]	0,022	13,65[8,20; 20,88]	<0,001
	TLR4	8,40[6,50; 10,00] 6,91–9,64	Группа 1 6,20[4,20; 7,00] Группа 2 12,55[9,75; 15,68]	$p=0,001$ 0,028 0,010	Группа 1 3,40[1,68; 5,53] Группа 2 3,45[2,13; 6,48]	$p>0,050$ 0,035 0,025
MFI НГ	IFN $\alpha$ / $\beta$ R1	1,10[1,08; 1,29] 1,09–1,23	1,08[1,06; 1,23]	0,016	1,13[1,08; 1,20]	0,001
	CD119	1,16[1,13; 1,19] 1,14–1,18	1,19[1,15; 1,22]	0,029	1,15[1,13; 1,18]	0,006
	TLR4	1,14[1,07; 1,16] 1,14–1,20	1,08[1,07; 1,19]	>0,050	1,10[1,06; 1,17]	>0,050



**Рисунок 1.** Динамика позитивного модулирования трансформированного фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+ IFN\gamma R^+ TLR4^+$  НГ (а) и плотности экспрессии (MFI) молекул  $IFN\alpha/\beta R1^+$ ,  $IFN\gamma R^+$ ,  $TLR4^+$  на мембране НГ (б) у пациентов с ХГВИ после воздействия ГМДП;

Примечание: \*  $-p < 0,01$ ; \*\*  $-p < 0,05$ ; \*\*\*  $-p > 0,05$ .

с ГМДП практически не изменилась и составила 1,10 [1,06; 1,17] (таб. 1, рис. 1).

Анализируя полученные данные, в заключение следует отметить особенности трансформирования фенотипа  $IFN\alpha/\beta R1^+ IFN\gamma R^+ TLR4^+$  нейтрофильных гранулоцитов (НГ) пациентов с ХГВИ. Количество  $IFN\alpha/\beta R1^+$  НГ и  $CD119^+$  НГ у лиц, страдающих ХГВИ достоверно выше, чем у условно-здоровых лиц. Экспрессия молекул TLR4 на мембранной поверхности НГ отличается от уровня контроля, но, при этом, изменяется в двух различных направлениях. Так, в одной группе пациентов с ХГВИ наблюдалось снижение числа  $TLR4^+$  НГ, а в другой группе наоборот, — имело место повышение числа  $TLR4^+$  НГ по сравнению с контрольной группой.

## ВЫВОДЫ

1. При проведении настоящего экспериментального исследования установлены особенности нетрансформированного фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+ IFN\gamma R^+ TLR4^+$  НГ условно-здоровых лиц. Установленные параметры были использованы в качестве контроля.

2. Выявлены определенные трансформационные изменения фенотипа субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+ IFN\gamma R^+ TLR4^+$  НГ у пациентов, страдающих ХГВИ, что, по-видимому, является результатом повреждающего воздействия герпес-вирусов.

3. Продемонстрировано, что ГМДП обладает выраженными позитивными иммуномодулирующими влияниями на трансформированный фенотип субпопуляции  $IFN\alpha/\beta R1^+ CD119^+ TLR4^+$  НГ пациентов с ХГВИ.

4. Отмечены следующие позитивные изменения: повышение процента НГ, экспрессирующих

на своей поверхностной мембране рецепторы к  $IFN\alpha/\beta R1$  и к  $IFN\gamma R$  (CD119); снижение количество  $TLR4^+$  НГ, как в группе с более низким числом  $TLR4^+$  НГ, так и в группе с более высоким их количеством, что дополнительно характеризует модулирующих характер влияний ГМДП.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. *Нестерова И. В., Колесникова Н. В., Чудилова Г. А., Ломтатидзе Л. В., Ковалева С. В., Евглевский А. А., Нгуен Т. З.Л.* Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. (Часть 1). *Инфекция и Иммунология* 2017, 7(3), 219–230. DOI:10.15789/2220-7619-2017-3-219-230. [Nesterova I. V., Kolesnikova N. V., Chudilova G. A., Lomtadidze L. V., Kovaleva S. V., Yevglevsky A. A., Nguyen T. Z.L. A new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. (Part 1). *Infection and immunity* 2017, 7(3), 219–230. DOI:10.15789/2220-7619-2017-3-219-230. Russian].
2. *Boer K., Vogelsang H., Deufel T., Pfister W., Kiehntopf M.* CD62L on neutrophil granulocytes, a useful, complementary marker for the prediction of ventriculitis in blood-containing CSF. *Clin. Biochem* 2010, 43(16–17), 1351–1355.
3. *De Jong E., De Lange D. W., Beishuizen A., Van de Ven P. M., Girbes A. R., Huisman A.* Neutrophil CD64 expression as a longitudinal biomarker for severe disease and acute infection in critically ill patients. *Int. J. Lab. Hematol* 2016, 38(5), 576–584.
4. *Qian W., Huang G. Z.* Neutrophil CD64 as a marker of bacterial infection in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Immunol. Invest* 2016, 45(6), 490–503.
5. *Rocha et al.* Type I Interferon Transcriptional Signature in Neutrophils and Low-Density Granulocytes Are Associated with Tissue Damage in Malaria. *Cell Reports* 2015, 13(12), 2829–2841.
6. *Tang F. S., Van Ly D., Spann K., Reading P. C., Burgess J. K., Hartl D., Baines K. J., Oliver B. G.* Differen-

- tial neutrophil activation in viral infections: Enhanced TLR-7/8-mediated CXCL8 release in asthma. *Respirology* 2016, 21(1), 172–179.
7. *Almishri W., Santodomingo-Garzon T., Le T., Stack D., Mody C.H., Swain M.G.* TNF $\alpha$  augments cytokine-induced NK cell IFN $\gamma$  production through TNFR2. *J Innate Immun* 2016, 8(6), 617–629.
  8. *Нестерова И. В., Евглевский А. А., Чудилова Г. А. и соавт.* Реструктуризация хроматина нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии / Под редакцией И. В. Нестеровой и А. А. Евглевского. – Capricorn Publishing, Inc. – UK, USA, Moscow, 2017. – 356c. doi:10.17513/NP278. *Nesterova I. V., Yevglevsky A. A., Chudilova G. A. et al.* The restructurization of the chromatin of neutrophilic granulocytes in health and disease / edited by Nesterova. I. V., Yevglevsky A. A. Capricorn Publishing, Inc. – UK, USA, Moscow, 2017. – 356P. doi:10.17513/NP278.
  9. *Boyle J. P., Parkhouse R., Monie T. P.* Insights into the molecular basis of the NOD2 signalling pathway. *Open Biol* 2014, 4(12), 140–178.
  10. *Laman A. G., Lathe R., Shepelyakovskaya A. O., Gartseva A., Brovko F. A., Guryanova S., Alekseeva L., Meshcheryakova E. A., Ivanov V. T.* Muramyl peptides activate innate immunity conjointly via YB1 and NOD2. *Innate Immunity* 2016, 22(8), 1–8.

## THE MODULATORY EFFECTS OF GLUCOSAMINYLMURAMILDIPETIDE ON THE TRANSFORMED PHENOTYPE OF THE SUBSET OF IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>IFN $\gamma$ R<sup>+</sup>TLR4<sup>+</sup> NEUTROPHILIC GRANULOCYTES OF PATIENTS WITH CHRONIC HERPES-VIRAL INFECTIONS IN THE EXPERIMENT *IN VITRO*

© 2018 I. V. Nesterova<sup>1</sup>, T. D. L. Nguyen<sup>1</sup>, E. O. Khalturina<sup>2</sup>, S. V. Khaidukov<sup>3</sup>, S. V. Guryanova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FSAEI HE «RUDN» University of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia

Received: 15.05.2018. Accepted: 25.06.2018

Our study focuses on the transformed phenotype of neutrophilic granulocytes (NGs) expressing IFN $\alpha$ / $\beta$ R1, IFN $\gamma$ R, TLR4 receptors in patients with a variety of chronic herpes viral infections, and capability to modulate negative altered phenotype of IFN $\alpha$ / $\beta$ R1<sup>+</sup>IFN $\gamma$ R<sup>+</sup>TLR4<sup>+</sup>NGs subpopulation of the peripheral blood of these patients under the influence of glucosaminylmuramyl dipeptide in the system *in vitro*. The features of the transformed phenotype of NGs were described. The influence of glucosaminylmuramyl dipeptide on transformed phenotype of NGs was investigated *in vitro*. It was shown that in group of patients with chronic herpes viral infections, the percent of NGs, expressing IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 and IFN $\gamma$ R increased compared with the control group of conditionally healthy individuals. The number of TLR4<sup>+</sup>NGs of these patients was divided into two groups with high reliability of differences between the both groups and was differed from the level of TLR4<sup>+</sup>NGs of the control group. In accordance with this, in one group the number of NGs expressing TLR4 receptors was lower than in the control group of conditionally healthy individuals, and in the other group – was higher. In group's patients with chronic herpes viral infections, under the influence of glucosaminylmuramyl dipeptide the number of NGs, expressing on the surface membrane receptors IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 receptors and IFN $\gamma$ R receptors had decreased, the number of TLR4<sup>+</sup>NGs in both groups had decreased to one level, which was lower than in the control groups. In addition, glucosaminylmuramyl dipeptide had greatly increased the density of expression of IFN $\alpha$ / $\beta$ R1 molecules on the membrane of NGs, moderately reduced the density' expression of IFN $\gamma$ R, and didn't change the density of expression of TLR4 on NGs of group's patients with chronic herpes viral infections.

**Key words:** neutrophilic granulocytes, chronic herpes-viral infections, glucosaminylmuramyl dipeptide, experiment *in vitro*, phenotype transformation

### Authors:

**Nesterova I. V.**, ✉ Doctor of Medical Sciences (DM), Professor of the Department of Allergology and Immunology FPT MW of the Medical Institute, FSAEI HE «RUDN University» of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia; 117513, Moscow, Leninskiy pr., 123–1. Phone: 8 916 187 73 41; E-mail: inesterova1@yandex.ru.

**Nguyen T. D. L.**, postgraduate student of the Department of Allergology and Immunology FPT MW of the Medical Institute, FSAEI HE «RUDN» University of Ministry of Education and Science of Russia, Moscow, Russia;

**Khalturina E. O.**, PhD Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;

**Khaidukov S. V.**, Doctor of Biological Sciences (DB), Senior Researcher of Department of Chemical Biology of Glycans and Lipids, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia;

**Guryanova S. V.**, PhD, research scientist, laboratory of peptide chemistry of Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia.