

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН



2015 * № 4

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2015

УДК: 547.964:571.27

А.В. Зурочка^{1,2}, В.А. Зурочка^{1,2}, Е.Б. Зуева¹, М.А. Добрынина¹, В.В. Дукарт¹,
С.В. Черкасов³, В.А. Гриценко^{3,4}

**ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПЕПТИДА АКТИВНОГО ЦЕНТРА
ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО
ФАКТОРА (ГМ-КСФ) НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ НЕЙТРОФИЛАМИ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

¹ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

² Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет), Челябинск, Россия

³ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

⁴ Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Установить характер влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) ZP-2 на секрецию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека.

Материалы и методы. Объектами исследования были нейтрофилы периферической крови 10 доноров, полученных путем градиентного центрифугирования плазмы крови на двойном градиенте фиколл-верографин плотностью 1,075-1,093. В экспериментах использовали опытный образец синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ - ZP2 (химическая формула - THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), полученный твердофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A». Влияние данного пептида (концентрация 20 мкг/мл) на секрецию цитокинов определяли на приборе Масрих-100 (USA), с использованием мультиплексных наборов компании БиоРад (США) для определения 17 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, IL-10, IL-12p70, INF- γ , IL-13, IL-17A, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, TNF- α , IL-8, MCP-1, MIP-1 β) в супернатантах клеток после 1 часа инкубации с нейтрофилами, контролем служили супернатанты нейтрофилов инкубированные в питательной среде без препарата.

Результаты. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 при добавлении к нейтрофилам вызывал усиление секреции следующих цитокинов - G-CSF, GM-CSF, IL-12p70, INF- γ , IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, TNF- α , IL-8, MIP-1 β , при этом наиболее выраженное усиление секреции было выявлено для 5 цитокинов- IL-17A, IL-1 β , IL-6, IL-8, MIP-1 β .

Заключение. Синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2) оказывает на секрецию нейтрофилами цитокинов выраженное влияние, при этом более выраженное влияние отмечено на секрецию 4 цитокинов - IL-1 β , IL-6, IL-8, MIP-1 β .

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), активный центр, синтетический пептид, цитокины.

A.V. Zurochka^{1,2}, V.A. Zurochka^{1,2}, E.B. Zueva¹, M.A. Dobrynina¹, V.V. Dukardt¹, S.V. Cherkasov³, V.A. Gritsenko^{3,4}

THE EFFECT OF OF SYNTHETIC PEPTIDE OF THE ACTIVE CENTER GRANULOCYTE-MACROPHAGE COLONY STIMULATING FACTOR (GM-CSF) ON CYTOKINE PRODUCTION BY HUMAN PERIPHERAL BLOODE NEUTROPHILS

¹ Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia
² South Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia
³ Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia
⁴ Orenburg scientific center UrB RAS, Orenburg, Russia

Objective. Set the nature of the effect of synthetic peptide of the active center of granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) ZP-2 secretion cytokines by human peripheral blood neutrophils.

Materials and methods. The objects of the study were neutrophils peripheral blood 10 donors, obtained by gradient centrifugation of blood plasma on a double gradient ficoll-verografin 1,075-1,093. In experiments using a prototype of a synthetic peptide of the active center of the GM-CSF - ZP2 (chemical formul: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), the resulting solid-phase method on a synthesizer «Applied Biosystems 430A». The effect of this peptide (concentration of 20 µg/ml) on the release of cytokines was determined in the device Macpax-100 (USA), using a multiplexed sets of BioRad (USA) to determine the 17 cytokines (G-CSF, GM-CSF, IL-10, IL-12p70, INF-γ, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, TNF-α, IL-8, MCP-1, MIP-1β) in supernatants cells after 1 hour incubation with neutrophils, the control of neutrophil supernatant were incubated in medium without drug.

Results. A synthetic peptide of the active site of the GM-CSF – ZP2 with incubate to neutrophils induced increased secretion of the following cytokines: G-CSF, GM-CSF, IL-12p70, INF-γ, IL-17A, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-7, TNF-α, IL-8, MIP-1β, with the most pronounced increased secretion were detected for 5 cytokine- IL-17A, IL-1β, IL-6, IL-8, MIP-1β.

Conclusion. A synthetic peptide of the active center of the GM-CSF – ZP2 has on the secretion of cytokines by neutrophils pronounced effect, and the more pronounced the effect observed on the secretion of cytokines 4 - IL-1β, IL-6, IL-8, MIP-1β.

Keywords: granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), the active center, synthetic peptide, cytokines.

Введение

Любые повреждения тканей макроорганизма сопровождаются воспалительной реакцией с выработкой клетками иммунной системы различных цитокинов, выполняющих регуляторную функцию [1].

Одним из таких цитокинов является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), состоящий из 127 аминокислот и стимулирующий костномозговое кроветворение, в частности рост и дифференцировку гемопоэтических клеток таких линий, как гранулоциты, макрофаги и эозинофилы [2]. В то же время результаты последующих исследований биологических эффектов активного центра ГМ-КСФ и его синтетических аналогов показали, что эти соединения обладают плеiotропным дейст-

вием, проявляя помимо основной функции иммуномодулирующую, репаративную и антибактериальную активность [3-6], что определяет перспективность их использования в качестве основы при создании новых лекарственных препаратов для клинической практики [7].

Особый интерес привлекают синтетические пептиды активного центра ГМ-КСФ, в частности ZP2 (химическая формула – THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), который обладает относительно высокой активностью во всем спектре указанных биологических эффектов [4, 5]. Вместе с тем пока отсутствуют данные об особенностях влияния этого синтетического пептида на секрецию цитокинов различными клетками иммунной системы и, в частности, нейтрофилами.

В этой связи целью настоящего исследования явился анализ характера влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на секрецию цитокинов нейтрофилами человека *in vitro*.

Материалы и методы

Объектами исследования были нейтрофилы периферической крови 10 доноров, полученных путем градиентного центрифугирования плазмы крови на двойном градиенте фиколл-верографин плотностью 1,093-1,075. Все процедуры осуществляются в силиконированной или пластиковой посуде. Венозная кровь, взятая в вакуумные пробирки для взятия венозной крови с литий-гепарином [8, 9], смешивается с 6% раствором декстрана Т-500 (на изотоническом растворе хлорида натрия) в соотношении 10:1. Далее кровь отстаивается при температуре 37°C в течение 40 минут. Плазма с лейкоцитами осторожно наслаивается на двухфазный градиент плотности фиколла-верографина. Плотность нижнего слоя 1,093-1,095, верхнего – 1,075-1,077; объем – 1,5 мл. Недопустимо перемешивание плазмы с градиентом и слоев между собой. Плазма с градиентами центрифугируется при 1500 об./мин в течение 40 минут. По окончании центрифугирования на интерфазе между плазмой и верхним градиентом располагается клеточное кольцо, содержащее 15-20% моноцитов, 10-15% гранулоцитов и 65-75% лимфоцитов. Между градиентами располагается клеточное кольцо на 98-100% состоящее из нейтрофилов. Нижнее кольцо осторожно снимается пастеровской пипеткой, шприцом с катетером для внутривенных инфузий или дозатором и переносится в другую пробирку. Клеточная взвесь отмывается от примеси градиентов пита-

тельной средой 199. Для этого в пробирку с клетками добавляют 2,0 мл питательной среды 199 и центрифугируют при 1500 об./мин в течение 10 минут, после чего надосадочную жидкость сливают. Отмывку повторяют трижды. По окончании отмывания подсчитывается концентрация клеток в камере Горяева и доводится питательной средой 199 до 5×10^6 кл/мл нейтрофилов.

В экспериментах использовали опытный образец синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ - ZP2 (химическая формула: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO), полученный твердофазным способом на синтезаторе «Applied Biosystems 430A».

Влияние данного пептида (в конечной концентрации 20 мкг/мл) на секрецию нейтрофилами цитокинов определяли на иммуноанализаторе MAGPIX-100 (USA) с использованием системы мультиплексного анализа Bio-Plex компании Bio-Rad (USA) для определения 17 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, IL-10, IL-12p70, INF- γ , IL-13, IL-17A, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, TNF-alfa, IL-8, MCP-1, MIP-1beta) в супернатантах клеток после 1 часа инкубации с нейтрофилами; контролями 1 и 2 соответственно служили среда RPMI-1640 и среда RPMI-1640 с добавлением пептида в той же концентрации, а также супернатанты нейтрофилов, инкубированные в питательной среде без препарата (опыт 1). Полученные результаты округляли до 0,1 пкг/мл.

Полученные данные обработаны с помощью программы Statistica 10 (StatSoft Inc., 2011) методами вариационной статистики с вычислением из 5 измерений средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$). О достоверности отличий между контролем и опытом судили по критерию Стьюдента - t [10].

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы 1, использованная в опытах *in vitro* тест-система для выявления 17 цитокинов успешно работала по всей «цитокиновой линейке», позволяя эффективно обнаруживать изменение содержания этих соединений в среде, в частности при их выделении неактивированными нейтрофилами (контроль 2 против контроля 1), что относилось, прежде всего, к GM-CSF, IL-12p70, IL-17A, IL-1 β и IL-6, концентрация которых в супернатанте нейтрофилов превышала контрольный уровень (среда RPMI-1640) в 1,2-7,0 раз ($p < 0,05-0,001$), а главное – к таким цитокинам-лидерам, как IL-8 и MIP-1 β , кратность увеличения концентрации которых относительно контроля 1 составила 23,9 и 36,7 раза соответственно ($p < 0,001$).

Эти результаты, очевидно, указывают на то, что процедуры выделения, подготовки и хранения (инкубации) нейтрофилов периферической крови человека способны их активировать еще на этапе пробоподготовки.

Таблица 1. Сравнительная характеристика содержания цитокинов в контрольных и опытных пробах, в том числе при добавлении в среду синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 ($M \pm m$)

Цитокины	Среда RPMI-1640 (контроль 1)	Среда RPMI-1640 + ZP2 (опыт 1)	Супернатант нейтрофилов (контроль 2)	Супернатант нейтрофилов + ZP2 (опыт 2)
G-CSF пкг/мл	16,2±1,5	17,1±1,3	19,3±1,6	34,6±2,7 $p_2 < 0,05$
GM-CSF пкг/мл	210,2±6,2	251,3±7,3 $p_1 < 0,05$	250,3±5,6 $p_1 < 0,05$	277,6±7,3 $p_2 < 0,05$
IL-10 пкг/мл	32,2±2,6	38,1±3,2	35,4±3,4	42,3±4,3
IL-12p70 пкг/мл	13,3±1,7	17,2±1,9	23,5±1,6 $p_1 < 0,05$	60,5±4,2 p_1 и $p_2 < 0,05$
INF- γ пкг/мл	13,2±1,3	13,1±1,4	13,5±1,5	23,6±2,7 p_1 и $p_2 < 0,05$
IL-13 пкг/мл	10,1±1,1	10,3±1,4	11,4±1,3	18,6±3,8
IL-17A пкг/мл	29,5±2,6	29,4±3,4	62,5±5,6 $p_1 < 0,05$	337,8±11,8 $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,01$
IL-1 β пкг/мл	13,4±1,5	14,1±1,6	42,3±3,4 $p_1 < 0,05$	287,5±16,8 p_1 и $p_2 < 0,01$
IL-2 пкг/мл	35,5±3,5	35,3±3,8	38,4±4,5	49,2±6,8
IL-4 пкг/мл	17,3±1,8	18,1±2,1	23,5±2,4	53,5±5,9 p_1 и $p_2 < 0,05$
IL-5 пкг/мл	9,1±1,1	9,4±1,5	9,5±1,3	12,7±2,3
IL-6 пкг/мл	17,6±1,8	18,4±2,1	122,5±9,7 $p_1 < 0,05$	1574,6±76,8 p_1 и $p_2 < 0,001$
IL-7 пкг/мл	10,3±1,2	10,3±1,5	12,5±1,6	18,6±2,2 p_1 и $p_2 < 0,05$
TNF- α пкг/мл	15,3±1,8	15,4±1,6	16,2±1,9	67,7±6,7 $p_1 < 0,05$, $p_2 < 0,05$
IL-8 пкг/мл	13,4±2,3	14,4±2,2	320,9±14,5 $p_1 < 0,01$	3541,7±211,4 p_1 и $p_2 < 0,001$
MCP-1 пкг/мл	12,7±1,8	12,6±1,6	12,4±1,9	19,4±3,7
MIP-1 β пкг/мл	40,7±4,8	40,2±4,9	1492,8±72,7 $p_1 < 0,01$	12538,2±768,9 p_1 и $p_2 < 0,001$

Примечание: p_1 - достоверность различий по отношению к среде RPMI-1640 (контроль 1);
 p_2 - достоверность различий по отношению к супернатантам нейтрофилов (контроль 2).

Следует отметить, что тест-система оказалась «восприимчивой» к внесению в среду RPMI-1640 синтетического пептида ZP2 (опыт 1) и фиксировала в пробах (по сравнению с контролем 1) незначительное (на 19,6%), но достоверное увеличение концентрации GM-CSF ($251,3 \pm 7,3$ против $210,2 \pm 6,2$ пкг/мл; $p < 0,05$). В то же время уровень других цитокинов в этих пробах (опыт 1) существенно не отличался от контроля 1, который, фактически, отражает минимальный уровень чувствительности самого метода и/или его погрешность (табл. 1). Эти данные, видимо, свидетельствуют о способности используемой тест-системы «улавливать» синтетический пептид активного центра GM-КСФ – ZP2 как гомолога самого цитокина, хотя, скорее всего, степень его связывания не велика из-за незначительного размера пептида ZP2.

Принимая во внимание вышеописанные обстоятельства, наиболее адекватным контролем при оценке влияния синтетического пептида активного центра GM-КСФ – ZP2 на продукцию/секрецию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека (опыт) следует считать контроль 2 (супернатант клеток), но при анализе реакции фагоцитов по GM-CSF необходимо учитывать его значения в опыте 1 (среда RPMI-1640+ZP2).

Часовая инкубация нейтрофилов с синтетическим пептидом активного центра GM-КСФ – ZP2 приводила к повышению в супернатанте клеток (опыт) содержания всех изученных цитокинов (таблица). Это, безусловно, указывает на способность синтетического пептида ZP2 запускать «цитокиновый каскад» (одна из основных характеристик цитокинов), когда под влиянием конкретного цитокина активируется продукция других цитокинов [11].

Однако выявленный эффект повышения концентрации цитокинов в супернатанте нейтрофилов при действии на клетки синтетического пептида активного центра GM-КСФ – ZP2 имел разную степень выраженности и достоверно регистрировался только в отношении следующего спектра цитокинов: G-CSF, GM-CSF, IL-12p70, INF- γ , IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, TNF- α , IL-8 и MIP-1 β (табл. 2).

Сразу оговоримся, что все цитокины, уровень которых в супернатанте достоверно повышался при инкубации нейтрофилов с синтетическим пептидом ZP2, условно можно разделить на три подгруппы: 1 – цитокины, увеличение концентрации которых в опыте 2 не превышало 100% от контрольного уровня (т.е. кратность меньше 2,0); 2 – цитокины со средней степенью повышения их уровня в опыте 2 относительно контроля 2 (кратность – от 2,0 до

5,0 раз) и 3 – цитокины с выраженной стимуляцией продукции/выброса после воздействия данного пептида на нейтрофилы (кратность > 5,0).

Таблица 2. Достоверное влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на секрецию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека (M±m)

Цитокины (пкг/мл)	Супернатант нейтрофилов (контроль 2)	Супернатант нейтрофилов + ZP2 (опыт 2)	Кратность повышения уровня (опыт 2 / контроль 2)
G-CSF	19,3±1,6	34,6±2,7; p<0,05	1,793
GM-CSF	250,3±5,6	277,6±7,3; p<0,05	1,109
IL-12p70	23,5±1,6	60,5±4,2; p<0,05	2,574
INF-γ	13,5±1,5	23,6±2,7; p<0,05	1,748
IL-17A	62,5±5,6	337,8±11,8; p<0,01	5,405
IL-1β	42,3±3,4	287,5±16,8; p<0,01	6,797
IL-4	23,5±2,4	53,5±5,9; p<0,05	2,277
IL-6	122,5±9,7	1574,6±76,8; p<0,001	12,854
IL-7	12,5±1,6	18,6±2,2; p<0,05	1,488
TNF-α	16,2±1,9	67,7±6,7; p<0,05	4,179
IL-8	320,9±14,5	3541,7±211,4; p<0,001	11,037
MIP-1β	1492,8±72,7	12538,2±768,9; p<0,001	8,399

Примечание: p - достоверность различий по отношению к контролю 2.

Так, к первой подгруппе относились 4 цитокина – G-CSF, GM-CSF, INF-γ и IL-7, чей уровень в супернатанте нейтрофилов под действием синтетического пептида ZP2 повышался на 10,9-79,3% относительно контроля 2; во вторую подгруппу вошли три цитокина (IL-12p70, IL-4 и TNF-α), содержание которых в опытных пробах увеличивалось в 2,3-4,2 в сравнении с контрольным уровнем; а 3 подгруппу составили 5 цитокинов (IL-17A, IL-1β, IL-6, IL-8 и MIP-1β), отреагировавших максимальным подъемом своего уровня в супернатантах нейтрофилов после инкубации с синтетическим пептидом ZP2 – кратность составила 5,4-12,9 (табл. 2).

Заключение

Суммируя представленные данные, необходимо подчеркнуть несколь-

ко ключевых моментов.

Во-первых, предложенная нами модель оценки продукции цитокинов нейтрофилами в процессе часовой их инкубации с синтетическим пептидом активного центра ГМ-КСФ – ZP2 показала достаточно высокую ее эффективность. Выявлено, что в течение 1 часа нейтрофилы способны секретировать цитокины в достаточно широком спектре. Предложенная модель позволяет не только оценивать секрецию различных цитокинов нейтрофилами, но и изучать возможные механизмы регуляции цитокиновой продукции этими клетками в условиях инкубирования с различными биологически активными веществами, в том числе цитокинами и синтетическими пептидами их активных центров.

Во-вторых, экспериментально установлено, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 значительно усиливает секрецию нейтрофилами всех изученных цитокинов, но достоверно – G-CSF, GM-CSF, IL-12p70, INF- γ , IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, TNF- α , IL-8, MIP-1 β , которые по своей «реакции» на данный пептид можно условно разделить на три подгруппы: с низким, средним и высоким уровнем продукции. Это указывает на то, что синтетический пептид ZP2 ведет себя как полноценный цитокин, так как он способен запускать «цитокиновый каскад» (одна из основных характеристик цитокинов), когда под влиянием конкретного цитокина активируется продукция других цитокинов [11].

В-третьих, при анализе результатов обнаружено, что в ответ на воздействие синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 нейтрофилы повышали продукцию/выброс как факторов роста (G-CSF, GM-CSF), так провоспалительных (INF- γ , IL-17A, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-7, TNF- α) и противовоспалительных (IL-12p70) цитокинов, а также хемокинов (IL-8, MIP-1 β), хотя наиболее существенно (в 5,4-12,9 раза) усиливалась секреция 5 цитокинов – IL-17A, IL-1 β , IL-6, IL-8 и MIP-1 β , имеющих, как известно, непосредственное отношение к формированию воспалительной реакции в макроорганизме.

Кроме того полученные данные свидетельствуют о том, что синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2, помимо иммуностимулирующего, антибактериального и репаративного действия [3-5], обладает способностью активировать регуляторные механизмы клеток периферической крови и, в частности, нейтрофилов. Это расширяет возможности применения лекарственных препаратов, создаваемых на его основе, для коррекции со-

стояний, при которых нарушена функция секреции цитокинов.

В то же время способность указанного пептида усиливать провоспалительную цитокино-продукцию должна учитываться в тех ситуациях, когда активация данных механизмов является противопоказанием для назначения препаратов со сходным механизмом действия, или там, где при развитии патологического процесса имеется выраженная секреция таких цитокинов, как IL-17A, IL-1 β , IL-6, IL-8 и MIP-1 β .

(Работа выполнена по проектам ИИФ УрО РАН № 15-3-4-33 и ИКВС УрО РАН № 15-3-4-34 в рамках Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН)

ЛИТЕРАТУРА

1. Иммунология: структура и функции иммунной системы / Под ред. Р.М. Хаитова. М., 2013. 280 с.
2. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.* 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
3. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Суховой Ю.Г. и др. Иммунотропные и биологические эффекты синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2011. 2/2 (35): 23-24.
4. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Костоломова Е.Г. и др. Антибактериальные, иммунотропные и репаративные свойства пептидов активного центра ГМ-КСФ, различных дефензинов и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45⁻-клеток - предшественников гемопоэза. *Российский иммунологический журнал.* 2012. Т. 6 (14). 3 (1): 78-79.
5. Зурочка А.В. Зурочка В.А., Костоломова Е.Г. и др. Сравнительная характеристика антибактериальных свойств синтетических пептидов активного центра GM-CSF и веществ, полученных из супернатантов CD34⁺45^{dim} клеток-предшественников гемопоэза. *Цитокины и воспаление.* 2012. Т. 11. 2: 96-99.
6. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гольцова И.А., Гриценко В.А. Новые подходы к изучению спектра биологической активности синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ. *Российский иммунологический журнал.* 2014. Т. 8 (17). 3: 690-693.
7. Гриценко В.А., Аминин Д.Л., Зурочка А.В. и др. Некоторые биологические эффекты иммуномодуляторов естественного и синтетического происхождения *in vitro* как основа создания новых лекарственных средств для борьбы с эндогенными инфекциями. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2012. 3: 1-17 [Электронный ресурс]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-ZAV.pdf>).
8. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов». *Российский иммунологический журнал.* 2014. Т. 8 (17). 4: 974-992.
9. Wong L., Wilson R.D. The identification of Fc and C₃ receptors on human neutrophils. *J. Immunol. Meth.* 1975. 7: 69-76.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352с.
11. Симбирцев А.С., Тотолян А.А. Цитокины в лабораторной диагностике. *Инфекц. бол.: новости, мнения, обучение.* 2015. 2: 82-98.

Поступила 16.11.2015 г.

(Контактная информация: Зурочка Александр Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: av_zurochka@mail.ru;

Зурочка Владимир Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: v_zurochka@mail.ru;

Добрынина Мария Александровна – аспирант Института иммунологии и физиологии УрО РАН; адрес: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106; тел.: +7(343)374-00-70; E-mail: secretar@iir.uran.ru;

Черкасов Сергей Викторович – доктор медицинских наук, доцент, директор Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел.: +7(3532)77-54-17; E-mail: cherkasovsv@yandex.ru;

Гриценко Виктор Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ученый секретарь Президиума Оренбургского научного центра УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел.: +7(3532)77-54-17; E-mail: vag59@mail.ru

LITERATURA

1. Immunologija: struktura i funkcii immunnoj sistemy / Pod red. R.M. Haitova. M., 2013. 280 s.
2. Murphy J.M., Young I.G. IL-3, IL-5, and GM-CSF signaling: crystal structure of the human beta-common receptor. *Vitam. Horm.* 2006. 74: 1-30. DOI:10.1016/S0083-6729(06)74001-8.
3. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Suhovej Ju.G. i dr. Immunotropnye i biologicheskie jeffekty sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. *Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki.* 2011. 2/2 (35): 23-24.
4. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Kostolomova E.G. i dr. Antibakterial'nye, immunotropnye i reparacionnye svojstva peptidov aktivnogo centra GM-KSF, razlichnyh defensinov i veshhestv, poluchennyh iz supernatantov CD34+45--kletok - predshestvennikov gemopojeza. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2012. T. 6 (14). 3 (1): 78-79.
5. Zurochka A.V. Zurochka V.A., Kostolomova E.G. i dr. Sravnitel'naja harakteristika antibakterial'nyh svojstv sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-CSF i ve-shhestv, poluchennyh iz supernatantov CD34+45dim kletok-predshestvennikov gemopojeza. *Citokiny i vospalenie.* 2012. T. 11. 2: 96-99.
6. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gol'cova I.A., Gritsenko V.A. Novye podhody k izucheniju spektra biologicheskoy aktivnosti sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2014. T. 8 (17). 3: 690-693.
7. Gritsenko V.A., Aminin D.L., Zurochka A.V. i dr. Nekotorye biologicheskie jeffekty immunomoduljatorov estestvennogo i sinteticheskogo proishozhdenija in vitro kak osno-va sozdaniya novyh lekarstvennyh sredstv dlja bor'by s jendogennymi infekcijami. *Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN.* 2012. 3: 1-17 [Elektronnyj resurs]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-3%20/Articles/15GricenkoVA-ADL-AV.pdf>).
8. Hajdukov S.V., Bajdun L.A., Zurochka A.V., Totoljan A.A. Standartizovannaja tehnologija «Issledovanie subpopuljacionnogo sostava limfocitov perifericheskoy krovi s primeneniem protochnykh citofluorimetrov-analizatorov». *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2014. T. 8 (17). 4: 974-992.
9. Wong L., Wilson R.D. The indentification of Fc and C3 receptors on human neutrophils. *J. Immunol. Meth.* 1975. 7: 69-76.
10. Lakin G.F. *Biometrija.* M.: Vysshaja shkola, 1990. 352s.

11. Simbircev A.S., Totoljan A.A. Citokiny v laboratornoj diagnostike. Infekc. bol.: novosti, mnenija, obuchenie. 2015. 2: 82-98.

Образец ссылки на статью:

Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукарт В.В., Черкасов С.В, Гриценко В.А. Влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 4: 1-11 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/ZAV-2015-4.pdf>).