

2
НОМЕР

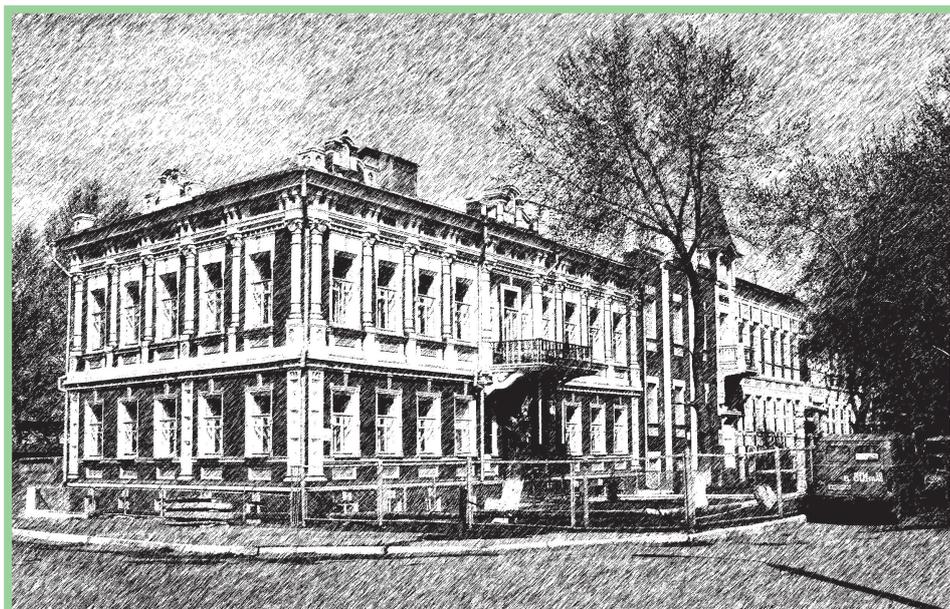


ISSN 2304-9081

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

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



2016

УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2016

УДК: 547.96:571.27-579.233

*А.В. Зурочка^{1,2}, В.А. Зурочка^{1,2}, М.А. Добрынина¹, Е.Б. Зуева¹,
В.В. Дукарт¹, В.А. Гриценко^{3,4}, Я.В. Тяпаева^{3,5}, В.А. Черешнев¹*

**ФЕНОМЕН НАЛИЧИЯ УНИКАЛЬНОЙ КОМБИНАЦИИ
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ У СИНТЕТИЧЕСКОГО АНАЛОГА
АКТИВНОГО ЦЕНТРА ГРАНУЛОЦИТАРНО-МАКРОФАГАЛЬНОГО
КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА (ГМ-КСФ)**

¹ Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

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

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

⁴ Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

⁵ Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

В работе систематизированы и проанализированы имеющиеся и вновь полученные экспериментально-клинические данные, которые отражают не только иммуотропную активность синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) – пептида ZP2, но и иные его иммунобиологические эффекты. Наличие у данного синтетического пептида ZP2 уникальной комбинации иммуномодулирующих, антибактериальных и репаративных свойств обеспечивает возможность его использования в биотехнологии при создании новых лекарственных препаратов для терапии широкого круга заболеваний, в том числе инфекционно-воспалительного генеза.

Ключевые слова: гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), синтетический пептид активного центра, иммунобиологические эффекты.

*A.V. Zurochka^{1,2}, V.A. Zurochka^{1,2}, M.A. Dobrynina¹, E.B. Zueva¹,
V.V. Duckart¹, V.A. Gritsenko^{3,4}, Y.V. Tyapaeva^{3,5}, V.A. Chereshnev¹*

**THE PHENOMENON OF UNIQUE COMBINATION OF IMMUNOBIOLOGICAL
PROPERTIES OF SYNTHETIC ANALOGUE OF THE ACTIVE CENTRE OF GRANU-
LOCYTE-MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (GM-CSF)**

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 Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

⁵ Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

The paper systematizes and analyzes the existing and newly obtained experimental and clinical data that reflect not only immunotropic activity of a synthetic analogue of the active centre of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) – peptide ZP2, but his other immunobiological effects. The presence of this synthetic peptide ZP2 unique combination of immunomodulatory, antibacterial and reparative properties provides the possibility of its use in biotechnology in creating new medications for treatment of a wide range of diseases including infectious and inflammatory genesis.

Keywords: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), synthetic peptide of the active centre, immunobiological effects.

При любом повреждении тканей макроорганизма, в том числе, сопряженным с экзо- или эндогенным их инфицированием бактериальными агентами, в нем развивается инфекционно-воспалительный процесс, в регуляции которого одну из ключевых позиций занимают цитокины [1-3]. Среди последних существенную роль в регуляции воспалительной реакции играет гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ; англ. GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), обладающий гемопоэтической активностью и контролирующей пролиферацию и дифференциацию клеток миелоидного диферона – предшественников фагоцитов [1, 4-6]. Хорошо известна иммунотропная активность ГМ-КСФ, направленная на мобилизацию противоинфекционной защиты, прежде всего, за счет стимуляции размножения и функционального потенциала фагоцитирующих клеток, в частности нейтрофилов и макрофагов [2, 6].

С одной стороны, ГМ-КСФ продуцируют различные клетки макроорганизма, такие как: нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, тучные и дендритные клетки, фибро- и остеобласты, эндотелиальные клетки и кератиноциты, клетки Панета и др. [2, 7-9]. С другой стороны, многие клетки макроорганизма несут на своей поверхности рецепторы к ГМ-КСФ, через взаимодействие с которыми реализуются регуляторная функция и биологические эффекты данного фактора. Следует отметить, что значительная часть иммунотропных эффектов ГМ-КСФ носит локальный характер и связана, в частности, с дифференцировкой гранулоцитов, быстрым увеличением макрофагов микроглии, трансформацией моноцитов в тканевые макрофаги (альвеолярные макрофаги, клетки Купфера в печени и др.), активацией дендритных клеток (DC), терминальным созреванием Т-лимфоцитов (прежде всего Th1) и др. [10-12].

Столь широкий пул клеток, синтезирующих ГМ-КСФ, а также наличие на многих типах клеток макроорганизма рецепторов к этому фактору роста косвенно указывают на поливалентное действие данного цитокина, хотя считается, что основными клетками-мишенями для ГМ-КСФ являются мультипотентные клетки-предшественники миелоидного ряда, в отношении которых указанный фактор выступает в качестве активатора их пролиферации и дифференцировки.

В известном смысле можно говорить, что ГМ-КСФ совмещает в себе

два функциональных вектора, один из которых направлен на пролиферацию гемопоэтических клеток-предшественников, их дифференцировку и созревание, другой – на активацию клеток-мишеней, несущих рецептор к данному цитокину (GM-CSF). Это обстоятельство определяет эффективность и целесообразность широкого клинического применения ГМ-КСФ и его рекомбинантных форм.

Сегодня учитывается и используется в клинике, в первую очередь, влияние ГМ-КСФ на иммунокомпетентные клетки. Будучи включенным в систему цитокиновой регуляции иммунной системы и воздействуя на стволовые гемопоэтические клетки, ГМ-КСФ инициирует размножение и дифференцировку гранулоцитов/макрофагов [13, 14]. В то же время ГМ-КСФ, взаимодействуя с нейтрофилами и макрофагами, стимулирует синтез дополнительных рецепторов на клетках и модулирует их ответ на хемотаксические факторы и фагоцитоз, а также пролонгирует срок жизни фагоцитарных клеток, то есть оказывает на них антиапоптотический эффект [15, 16]. Сам ГМ-КСФ относится к разряду мощных хемотаксических и хемокинетических агентов для человеческих нейтрофилов [17, 18]. Кроме того ГМ-КСФ увеличивает функциональную активность (окислительный метаболизм, цитотоксичность, антитело-зависимый фагоцитоз и др.) нейтрофилов, моноцитов и макрофагов [19, 20] и играет важную роль в созревании и активации миелоидных и плазматоидных дендритных клеток (DC – Dendritic Cells), которые под действием этого цитокина приобретают выраженную способность к антиген-презентации [21, 22].

Наличие у ГМ-КСФ вышеописанных эффектов указывает на важную роль данного цитокина не только в гемопоэзе, но и в развитии воспалительной реакции с освобождением/клиренсом поврежденных тканей от инфекционных агентов, что позволяет использовать ГМ-КСФ или его рекомбинантные формы в онкологии и инфектологии [23-26].

Однако широкому внедрению ГМ-КСФ в клиническую практику препятствуют трудности и высокая стоимость его получения в больших объемах, а также опасность контаминации нативного сырья вирусами и бактериями, что заставляет вести поиск/разработку новых более эффективных технологий производства данного цитокина. Одним из перспективных путей решения этой задачи является синтез пептидов активного центра ГМ-КСФ,

где к настоящему времени достигнуты определенные успехи.

Еще в 90-х годах XX века коллективом авторов была определена структура активного центра ГМ-КСФ и затем синтезирован пептид, воспроизводящий его последовательность, с химической формулой: THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO, обладающий рядом иммунотропных свойств, характерных для цельной природной молекулы данного цитокина [27-29]. Так, результаты специальных исследований с использованием двух моделей (культивирование в диффузионных камерах *in vivo* и культивирование *in vitro* в агарозных культурах на планшетах) показали, что данный пептид оказывает на кластеро- и колониеобразование клеток крови действие, практически идентичное цельной молекуле ГМ-КСФ [28].

В настоящей работе предпринята попытка системно проанализировать имеющиеся и вновь полученные экспериментально-клинические данные, отражающие не только иммуномодулирующее действие синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2, но и иные его иммунобиологические эффекты, совокупность которых определяет уникальность данного пептида и обеспечивает возможность его использования в биотехнологии при создании новых лекарственных препаратов для терапии широкого круга заболеваний, в том числе инфекционно-воспалительного генеза.

Иммуномодулирующие эффекты синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2.

В ряде наших ранних работ [30, 31] экспериментально установлено, что синтетический пептид ZP2 способен стимулировать пролиферацию лимфоцитов в РБТЛ (табл. 1) и усиливать дифференцировку стволовых гемопоэтических клеток в гранулоциты (табл. 2).

Как видно из данных таблицы 1, синтетический пептид ZP2 стимулировал пролиферацию лимфоцитов в РБТЛ более интенсивно, чем известные активаторы этой реакции – фитогемагглютинин (ФГА) и интерлейкин 2 (ИЛ-2) в тех же концентрациях (в 8,3 раза против 5,4 и 6,2 раза соответственно).

В опытах *in vitro* установлено, что под действием синтетического пептида ZP2 в концентрации 30 мкг/мл дифференцировка стволовых клеток нейтрофилы (CD13⁺/45⁺) была более выраженной, особенно в течение первых трех суток, когда доля маркерных клеток в опытных пробах в 1,19-1,55 раза превышала таковую в контроле (табл. 2).

Таблица 1. Влияние синтетического пептида ZP2 и других факторов на РБТЛ

№	Исследуемое вещество	Доля бластных клеток, %	Кратность превышения контроля
1	Спонтанный уровень (контроль)	11,7 ± 1,3	
2	ФГА (оптимальная доза) - 10 мкг/мл	62,9 ± 2,8*	5,4
3	ИЛ-2 - 10 мкг/мл	72,5 ± 3,24*	6,2
4	Синтетический пептид ZP2 - 10 мкг/мл	97,4 ± 5,4***	8,3

Примечание: * p<0,05 по отношению к спонтанному уровню РБТЛ (контроль);

** p<0,05 по отношению к ИЛ-2 и ФГА.

Таблица 2. Дифференцировка стволовых клеток в CD13⁺/45⁺ (нейтрофилы) при добавлении синтетического пептида ZP2 в концентрации 30 мкг/мл (n=10)

Исследуемые параметры	Исходное количество	1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки	5 сутки	6 сутки	7 сутки
Спонтанная дифференцировка (контроль), %	0,0±0,0	76,1±1,21	46,2±0,72	42,4±0,72	50,4±0,61	48,3±0,61	49,4±0,72	51,4±0,84
Дифференцировка при контакте с ZP2 в концентрации 30 мкг/мл, %	0,0±0,0	90,4±2,4*	71,5±1,2*	50,4±1,2*	51,4±0,96	50,4±1,2	56,6±0,96	62,5±1,2*
Кратность стимуляции дифференцировки клеток под действием ZP2	-	1,19	1,55	1,19	1,02	1,04	1,15	1,22

Примечание: * p<0,05 по отношению к контролю.

В специальной серии экспериментов, в которой изучалось влияние синтетического аналога активного центра ГМ-КС в градиенте концентраций (10-300 мкг/мл) на хемотаксис и хемокинез фагоцитов периферической крови условно-здоровых доноров, установлено активирующее действие пептида ZP2

на функциональную активность как гранулоцитов, так и моноцитов [32].

Как видно из данных, представленных в таблице 3, под действием синтетического пептида ZP2 дозо-зависимо увеличивались значения индексов хемотаксиса и хемокинеза обоих видов фагоцитов, причем несколько более выражено у моноцитов, чем у гранулоцитов, хотя эта разница была статистически не значима.

Таблица 3. Влияние синтетического пептида ZP2 на хемотаксис и хемокинез нейтрофилов и моноцитов условно-здоровых доноров *in vitro*

Исследуемые показатели	Средние значения параметров в группах (M±m, усл. ед.) при разной концентрации пептида ZP2				
	Спонтанная миграция клеток (контроль)	Опыт 1 - пептид ZP2 (10 мкг/мл)	Опыт 2 - пептид ZP2 (30 мкг/мл)	Опыт 3 - пептид ZP2 (100 мкг/мл)	Опыт 4 - пептид ZP2 (300 мкг/мл)
	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
Индекс хемотаксиса нейтрофилов	1,01±0,05	1,44±0,11*	1,56±0,12*	1,64±0,13*	1,78±0,13*
Индекс хемотаксиса моноцитов к пептиду ZP2	1,01±0,05	1,54±0,11*	1,66±0,12*	1,78±0,13*	1,82±0,13*
Индекс хемокинеза нейтрофилов к пептиду ZP2	1,01±0,05	1,52±0,11*	1,69±0,12*	1,72±0,13*	1,89±0,13*
Индекс хемокинеза моноцитов к пептиду ZP2	1,01±0,05	1,62±0,11*	1,73±0,12*	1,79±0,13*	1,88±0,13*

Примечание: * - достоверные различия между миграцией клеток в опытных группах и спонтанной миграцией клеток (контроль), p <0,05.

Поскольку ГМ-КСФ по своей функциональной активности близок к провоспалительным цитокинам, важно иметь представление о влиянии синтетического пептида ZP2 на секрецию фагоцитами регуляторных молекул, что было изучено в опытах *in vitro* с использованием нейтрофилов периферической крови человека [33]. При этом воздействие данного пептида (в конечной концентрации 20 мкг/мл; опыт) на секрецию нейтрофилами цитокинов определяли на иммуноанализаторе MAGPIX-100 (USA) с использованием сис-

темы 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- α , IL-8, MCP-1, MIP-1 β) в супернатантах клеток после 1 часа инкубации с гранулоцитами (табл. 4).

Таблица 4. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на секрецию нейтрофилами цитокинов в среду (M \pm m)

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

В опытах контролями 1 и 2 служили соответственно среда RPMI-1640 и

среда RPMI-1640 с добавлением пептида в той же концентрации, а также супернатанты нейтрофилов, инкубированные в питательной среде без препарата (контроль 3).

Как видно из таблицы 4, контакт синтетического пептида ZP2 с нейтрофилами периферической крови условно-здоровых доноров вызывал у них достоверно повышенную продукцию широкого спектра цитокинов, включая 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 . Причем 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. 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 регуляторных молекул [1].

Учитывая, что ГМ-КСФ способен пролонгировать срок жизни фагоцитарных клеток, целесообразным представлялось оценить в модельных экспериментах наличие у синтетического пептида ZP2 антиапоптотического эффекта. Совместно с коллегами из Института экспериментальной медицины (Санкт-Петербург) Кудрявцевым И.В. и Серебряковой М.К. нами изучено влияние синтетического пептида ZP2 (в градиенте конечных концентраций 10-200 мкг/мл) на состояние моноцито-подобных клеток линии THP-1 (клетки моноцитарной лейкемии человека) в модели цитотоксической гипоксии, вызванной внесением в среду для культивирования йодацетата (конечные концентрации 10 μ M и 15 μ M) [34]. Определение жизнеспособности клеток осуществляли путем их одновременного окрашивания с применением двух ДНК-связывающих флуоресцентных красителей: йодида YO-PRO-1 и йодистого пропидия (PI) [35] и анализа на проточном цитофлуориметре Navios™ («Beckman Coulter», США). Такая методика позволяет не только регистрировать факт запуска апоптоза, но выявлять различные его стадии.

Установлено, что при совместном культивировании клеток с йодацетатом и синтетическим аналогом активного центра ГМ-КСФ (на рисунках – GM-CSF) – пептидом ZP2 наблюдается увеличение относительного содержания живых клеток, причем эффект носит дозозависимый характер (рис. 1).

Так, на фоне индукции апоптоза 10 μM йодацетата (62,1 \pm 2,0% живых клеток) внесение пептида ZP2 в финальных концентрациях 10, 20, 100 и 200 мкг/мл сопровождалось достоверным ($p < 0,05$) градиентным увеличением относительного содержания живых клеток (69,7 \pm 1,5; 73,3 \pm 1,1; 85,6 \pm 1,5 и 93,0 \pm 0,4% соответственно).

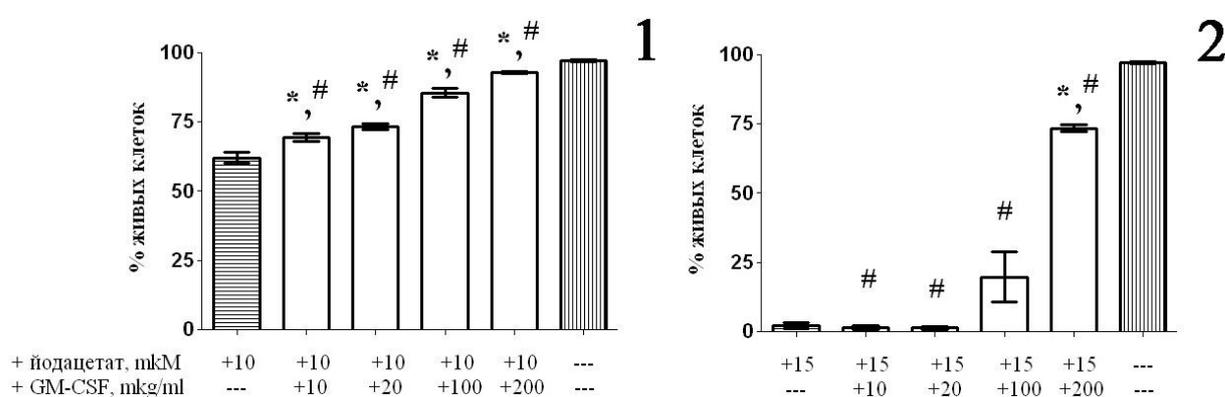


Рис. 1. Изменение относительного содержания живых клеток линии ТНР-1 в образцах после 24-часовой инкубации в присутствии 10 и 15 μM йодацетата (гистограммы 1 и 2 соответственно) и различных концентраций синтетического пептида ZP2.

Обозначение (здесь и на рисунках 2 и 3): горизонтальная штриховка – клетки линии ТНР-1 при инкубации с йодацетатом; вертикальная штриховка – клетки линии ТНР-1 при инкубации без внесения веществ (негативный контроль). * – различия достоверны в сравнении с образцами при внесении йодацетата ($p < 0,05$); # – различия достоверны в сравнении с образцами без внесения йодацетата или пептида ZP2 ($p < 0,05$).

В случае, когда для индукции апоптоза применяли йодацетат в финальной концентрации 15 μM (гибель 97,9 \pm 5,3% клеток), добавление пептида ZP2 в концентрациях 10 и 20 мкг/мл достоверно не влияло на увеличение количества жизнеспособных клеток, но при повышении его концентрации в среде до 100 и 200 мкг/мл наблюдался четкий тренд к уменьшению числа погибших клеток и достоверному увеличению относительного содержания жизнеспособных клеток (с 2,1 \pm 1,1% до 19,8 \pm 9,0 и 73,5 \pm 1,4% соответственно).

Кроме того, добавление в среду культивирования клеток линии ТНР-1

синтетического пептида ZP2 изменяло долю клеток, находящихся на ранних и поздних стадиях апоптоза, индуцированного йодацетатом (рис. 2 и 3).

Как видно из представленных диаграмм, инкубация клеток в присутствии 10 μM йодацетата приводила к увеличению доли популяции клеток на ранней стадии апоптоза с $1,3 \pm 0,3$ до $12,7 \pm 2,3\%$, сходные значения получены и для йодацетата в концентрации 15 μM ($12,7 \pm 5,5\%$), тогда как дополнительное внесение в среду синтетического пептида ZP2 (особенно, при концентрациях 100 и 200 мкг/мл) частично нивелировало этот эффект.

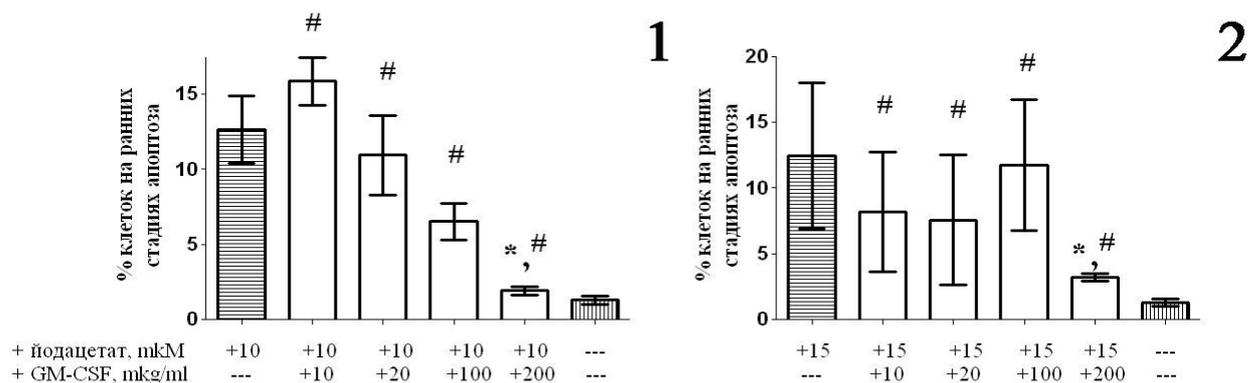


Рис. 2. Изменение относительного содержания клеток линии ТНР-1 на ранних стадиях апоптоза после 24-часовой инкубации в присутствии 10 и 15 μM йодацетата (гистограммы 1 и 2 соответственно) и различных концентраций синтетического пептида ZP2.

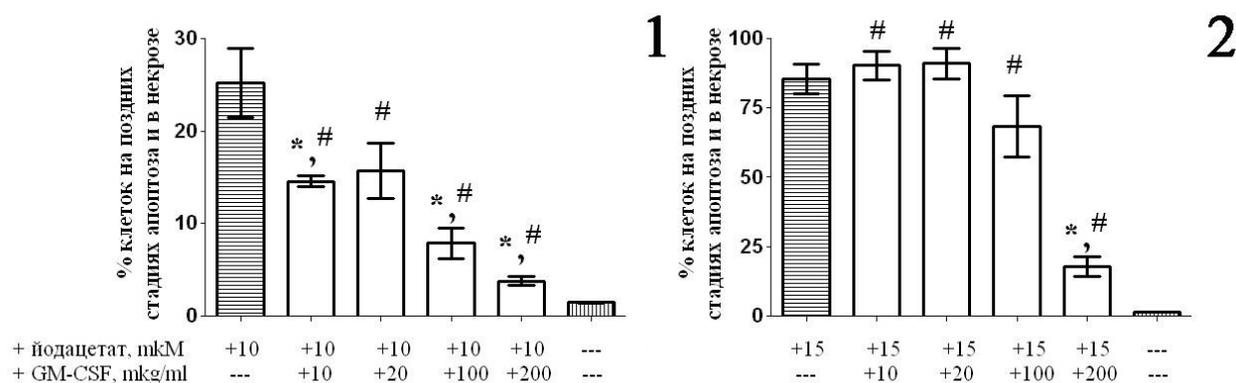


Рис. 3. Изменение относительного содержания клеток линии ТНР-1 на терминальных стадиях апоптоза и в некрозе после 24-часовой инкубации в присутствии 10 и 15 μM йодацетата (гистограммы 1 и 2 соответственно) и различных концентраций пептида ZP2.

Аналогичное заключение относится к изменению (в данном случае – уменьшению) относительного содержания клеток на поздних стадиях апоптоза

и в некрозе под влиянием синтетического пептида ZP2 на фоне действия йодацетата (рис. 3). Причем достоверный «протективный» (антиапоптотический) эффект данного пептида ZP2 более четко проявлялся в опытах с инкубацией клеток в присутствии 10 μ M йодацетата, а в экспериментах с 15 μ M йодацетата достоверные отличия опытных образцов (с пептидом) и контролей были отмечены только при использовании высокой концентрации синтетического пептида ZP2 – 200 мкг/мл.

Таким образом, представленные выше данные свидетельствуют о том, что синтетический аналог активного центра ГМ-КСФ – пептид ZP2 обладает комплексом иммуномодулирующих эффектов, связанных с регуляцией численности и функциональной активности фагоцитарных клеток – нейтрофилов и макрофагов, участвующих в воспалительной реакции и элиминации инфекционных агентов из очагов поврежденных тканей.

В этом плане заслуживают внимания имеющиеся данные о прямой антибактериальной активности синтетического пептида ZP2 [36-38], которые более подробно будут проанализированы ниже.

Антибактериальные эффекты синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2.

В модельных экспериментах *in vitro* с использованием музейных (коллекционных) тест-штаммов микрококка, кишечной палочки золотистого и эпидермального стафилококков культур детально охарактеризованы особенности влияния синтетического пептида ZP2 на развитие бактериальных популяций данных микроорганизмов в жидкой питательной среде и показана степень выраженности его ингибирующего действия на рост и размножение указанных бактерий с учетом фазы культивирования [39-41].

Следует отметить, что в диапазоне использованных концентраций синтетического пептида ZP2 (10-100 мкг/мл) кинетика роста и динамика Индексов ингибирования (ИИ, в %) бактерий имели черты определенной «видоспецифичности» (рис. 4).

Так, ИИ роста популяций *M. luteus var. lysodeikticus* градиентно увеличивался на 4, 6 и 24 часах культивирования и был максимальным на 24 часах: при концентрациях ZP2 10, 30 и 100 мкг/мл его значения соответственно составили $24,5 \pm 0,6$, $34,9 \pm 2,1$ и $42,8 \pm 2,0\%$ относительно контроля.

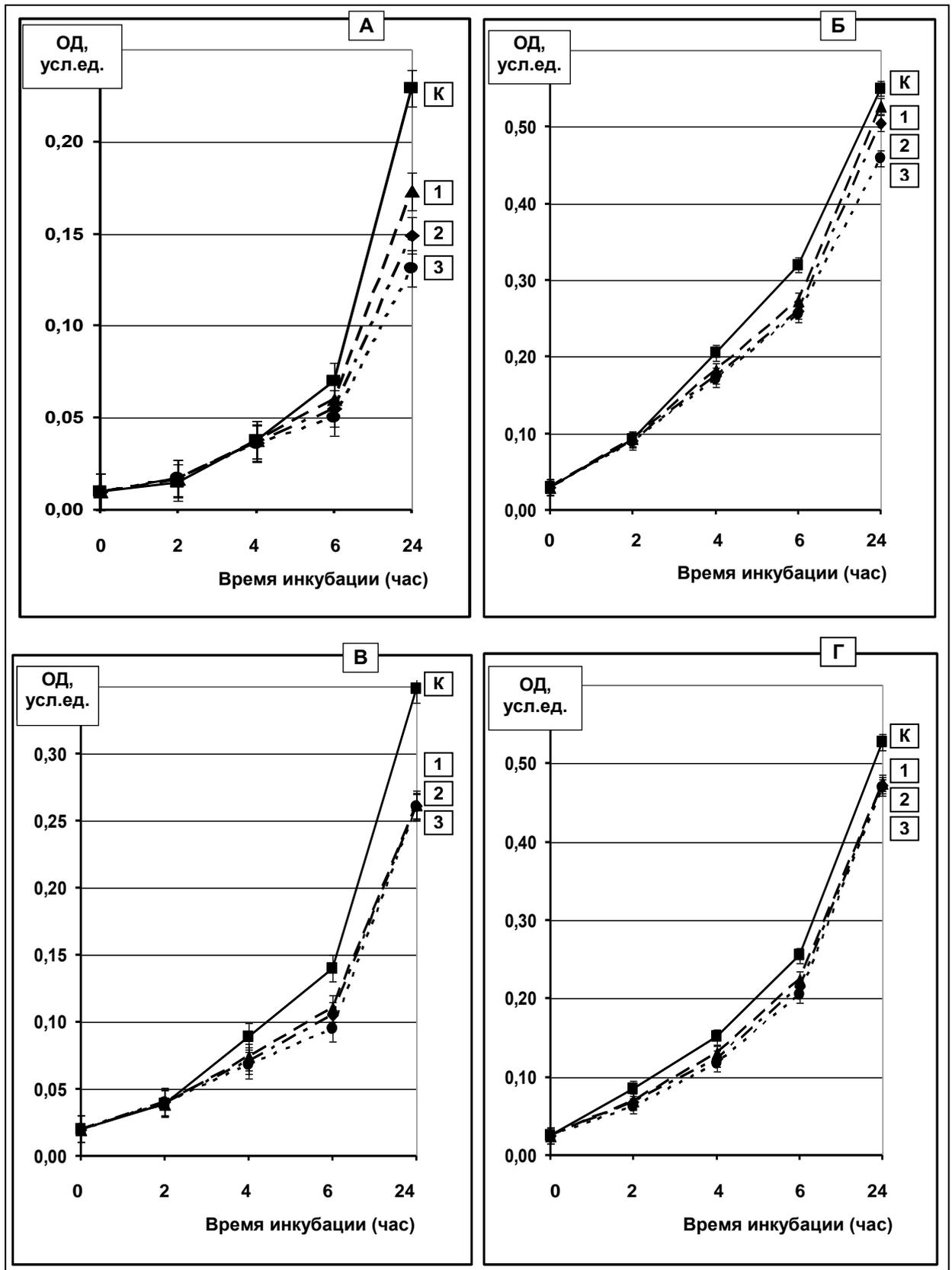


Рис. 4. Влияние на рост популяций *Micrococcus luteus* var. *lysodeikticus* (А), *S. aureus* 209Р (Б), *S. epidermidis* №711 (В) и *E. coli* К12 (Г) в МПБ (ОД, усл. ед.) ZP2 при разной концентрации (мкг/мл): 1 – 10; 2 – 30; 3 – 100; К – контроль.

Вместе с тем обращает на себя внимание тот факт, что на ранней фазе культивирования (2 часа инкубирования) наблюдался парадоксальный эффект – ZP2 «стимулировал» рост микрококка, о чем свидетельствовали более высокая оптическая плотность (ОД) опытных культур (0,017 против 0,015 усл. ед. в контроле) и отрицательные значения Индекса ингибирования ($-13,3 \pm 0,8 \dots -15,3 \pm 1,1\%$).

Сходную динамику ИИ демонстрировал штамм *S. epidermidis* №711 (рис. 4В), у которого на ранней фазе развития культуры в присутствии ZP2 (30 и 100 мкг/мл) также как и у *M. luteus var. lysodeikticus* биомасса сначала увеличивалась (хотя и менее отчетливо: $-3,8 \pm 0,4$ и $-2,6 \pm 0,4\%$ соответственно) относительно контроля, а затем (на 4-6 и 24 часах) прогрессивно снижалась при всех использованных концентрациях. В этом плане *S. aureus* 209P был более «инертен», но и у него наблюдалась незначительная ($-1,1 \pm 0,2\%$) стимуляция роста биомассы на 2 часах при концентрации ZP2 10 мкг/мл (рис. 4Б).

Этот «стимуляционный» эффект может быть связан с реакцией на данный пептид бактериальных клеток грамположительных кокков, взятых из периодических культур в стационарную фазу развития, которая отличается от таковой микроорганизмов, находящихся в стадии роста, – первые проявляют к нему большую устойчивость, чем вторые, очевидно, за счет тех изменений бактериальной стенки, которые характерны для микро- и стафилококков, переходящих в стационарное состояние – увеличение количества слоев муреинового пептидогликана и пептидных «перекрестно-связывающих мостиков», накопление тейхоевых и липотейхоевых кислот и др. [42].

Принципиально иначе синтетический пептид ZP2 (в концентрациях 10-100 мкг/мл) влиял на динамику развития в мясопептонном бульоне (МПБ) музейного штамма *Escherichia coli* K12 (рис. 4Д). В отличие от грампозитивных кокков (микрококк, эпидермальный и золотистый стафилококки) штамм *E. coli* K12 был более чувствителен к ZP2 именно на ранних этапах культивирования (2-6 часов), а к 24 часам ингибирующий эффект данного пептида снижался почти вдвое. Так, синтетический пептид ZP2 максимально тормозил прирост биомассы кишечной палочки на самых ранних этапах развития культуры (на 2 часах – $17,6-25,9\%$), постепенно снижая свое ингибирующее действие на более поздних сроках инкубации (на 4 и 6 часах) до $13,9-22,5\%$ и $11,8-19,6\%$ соответственно, которое достигало минимума на 24 часах – $9,9-$

11,0%). Иначе говоря, эшерихии исходно проявляли более выраженную чувствительность к данному пептиду, а затем, очевидно, путем «включения» каких-то адаптивных механизмов (например, за счет изменения химического состава, степени гидрофильности/гидрофобности, архитектоники клеточной стенки и др. [43]) приспособлялись к его антибактериальному действию.

При изучении в опытах *in vitro* действия синтетического пептида ZP2 на клинические изоляты стафилококков (*S. aureus* и *S. epidermidis*), выделенные из раны у больных с синдромом диабетической стопы и из влагиалища у женщин с внутриматочной патологией (в том числе, миомой матки) установлено [44], что анализируемые штаммы бактерий проявляли вариабельную чувствительность к антибактериальному действию указанного пептида ZP2 в минимальной концентрации 10 мкг/мл (табл. 5).

Таблица 5. Параметры чувствительности клинических штаммов стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2

Параметры чувствительности	Значения параметров у разных видов стафилококков	
	<i>S. aureus</i> (n=24)	<i>S. epidermidis</i> (n=12)
Доля чувствительных к ZP2 штаммов бактерий, (%):		
- на 4 часах	75,0±9,0	91,7±8,3
- на 24 часах	91,7±5,8	67,7±14,2
Диапазон Индекса ингибирования, (%):		
- на 4 часах	5,2-24,4	5,1-42,7
- на 24 часах	5,1-59,2	5,3-58,4
Средние значения Индекса ингибирования, (%):		
- на 4 часах	15,2±1,7	20,8±3,7
- на 24 часах	30,5±3,8	21,1±6,6

Как видно из данных, представленных в таблице, большинство (67,7-91,7%) клинических штаммов стафилококков вне зависимости от их видовой принадлежности (*S. aureus*, *S. epidermidis*) проявляли чувствительность к антибактериальному действию синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. При этом доля чувствительных к ZP2 клинических изолятов золотистых стафилококков увеличивалась к 24 часам инкубации (относительно 4 часов) до 91,7±5,8% (против 75,0±9,0%), тогда как количество культур *S. epidermidis*, чувствительных к данному пептиду, наоборот, снижалось с

91,7±8,3% (на 4 часах) до 67,7±14,2% (на 24 часах), что подтверждало ранее выявленную зависимость выраженности ингибирующего эффекта ZP2 от фазы развития бактериальных культур музейных штаммов грампозитивных кокков [39]. Следует отметить, что выявленные межвидовые отличия стафилококков по данному параметру их чувствительности к ZP2 носили характер тенденции и не были достоверными ($p > 0,05$), возможно, из-за ограниченного числа изученных клинических изолятов бактерий.

В то же время клинические штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* отличались широкой вариабельностью по уровню своей чувствительности к ингибирующему действию синтетического пептида ZP2. Так, значения Индекса ингибирования (ИИ) роста золотистых стафилококков колебались в диапазоне 5,2-24,4 и 5,1-59,2%, а эпидермальных стафилококков – 5,1-42,7 и 5,3-58,4% (на 4 и 24 часах соответственно), что свидетельствовало о выраженном межштаммовом разнообразии клинических изолятов стафилококков по степени их чувствительности к ZP2. Необходимо отметить, что средние значения ИИ роста чувствительных к ZP2 клинических штаммов *S. aureus* в процессе инкубации возрастали с 15,2±1,7% (на 4 часах) до 30,5±3,8% (на 24 часах), тогда как у клинических изолятов *S. epidermidis* средние значения ИИ в зависимости от фазы культивирования практически не изменялись и соответственно составили 20,8±3,7 и 21,1±6,6%.

Таким образом, несмотря на выявленную меж- и внутривидовую вариабельность чувствительности стафилококков к антибактериальному действию синтетического пептида ZP2, рост в жидкой питательной среде большинства клинических изолятов данных микроорганизмов существенно ингибировался указанным пептидом.

Кроме того, установлено, что в условиях *in vitro* синтетический пептид ZP2 даже в минимальной концентрации 10 мкг/мл способен угнетать биопленкообразование (БПО) клинических изолятов стафилококков [45], хотя этот эффект был относительно вариабелен (рис. 5).

Так, синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ – ZP2 подавлял формирование биопленок у 75,0±9,0% штаммов *S. aureus* и 50,0±15,1% штаммов *S. epidermidis* со средним уровнем ингибирования БПО 25,1±3,8 и 50,4±6,0% соответственно. Вместе с тем среди клинических изолятов стафилококков встречалось 8,3-25,0% штаммов, у которых под действием пептида

в данной концентрации наблюдалась стимуляция образования биопленок на 14,9-48,5%, а также 16,7-25,0% культур, у которых формирование биопленок не изменялось (индифферентная реакция).

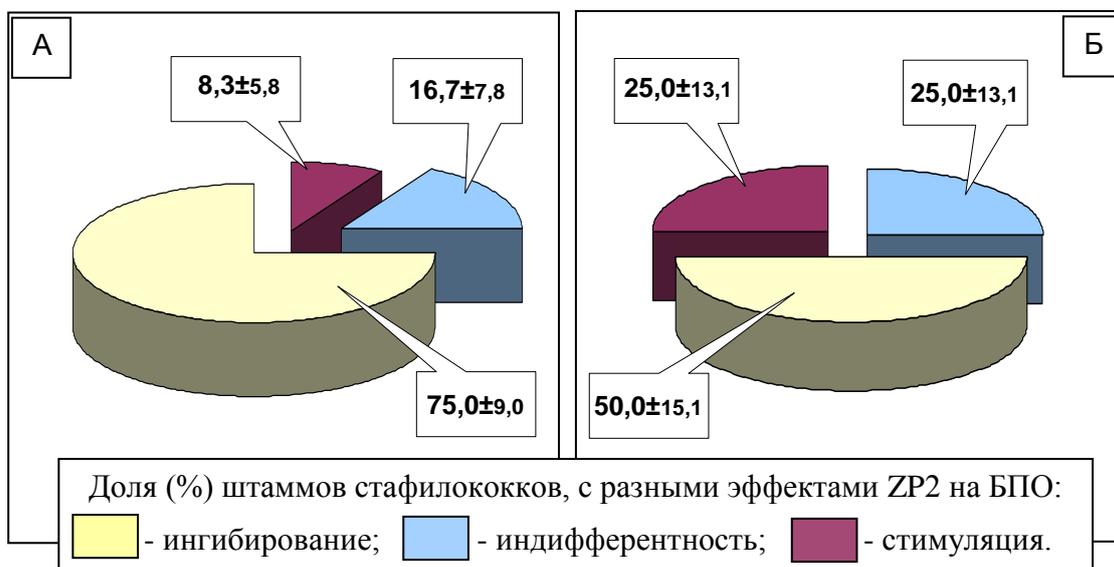


Рис. 5. Структура клинических штаммов *S. aureus* (А) и *S. epidermidis* (Б) с учетом влияния синтетического пептида ZP-2 на формирование у них биопленок (доля штаммов стафилококков, %).

Более детальная характеристика влияния пептида ZP2 на БПО клинических штаммов стафилококков представлена в таблице 6.

Таблица 6. Влияние синтетического пептида ZP2 на биоупленкообразование (БПО) клиническими штаммами стафилококков

Параметры биоупленкообразования (БПО) бактерий	Значения параметров у разных видов стафилококков	
	<i>S. aureus</i> (n=24)	<i>S. epidermidis</i> (n=12)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 ингибировал БПО, абс. (%)	18 (75,0±9,0)	6 (50,0±15,1)
Диапазон ингибирования БПО (min-max, %)	6,6-24,4	31,7-69,8
Средние значения уровня ингибирования БПО (%):	25,1±3,8	50,4±6,0*
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 не изменял БПО, абс. (%)	4 (16,7±7,8)	3 (25,0±13,1)
Количество штаммов бактерий, у которых ZP2 стимулировал БПО, абс. (%)	2 (8,3±5,8)	3 (25,0±13,1)
Диапазон стимуляции БПО (min-max, %)	18,1-21,6	28,6-48,5
Средние значения уровня стимуляции БПО (%):	19,9±1,8	39,8±5,9*

Примечание: * - достоверность отличий между группами, $p < 0,05$.

Из таблицы 6 видно, что по реакции БПО на синтетический пептид ZP2 группа клинических штаммов *S. aureus* была более «гомогенной», чем выборка изолятов *S. epidermidis*. Об этом, в частности, свидетельствовало присутствие среди культур золотистого стафилококка относительно небольшого числа штаммов, у которых синтетический пептид ZP2 не изменял БПО ($16,7 \pm 7,8\%$) или стимулировал продукцию биопленок ($8,3 \pm 5,8\%$), тогда как в группе эпидермального стафилококка количество таких культур достигало $25,0 \pm 13,1\%$. Кроме того у *S. aureus* в сравнении с *S. epidermidis* регистрировалась более низкая (примерно в 2 раза) выраженность как ингибирующего эффекта ($25,1 \pm 3,8$ против $50,4 \pm 6,0$ усл. ед.; $p < 0,05$), так и стимулирующей активности ($19,9 \pm 1,8$ против $39,8 \pm 5,9$ усл. ед.; $p < 0,05$) синтетического пептида ZP2 в отношении способности стафилококков продуцировать биопленки.

Приведенные данные, с одной стороны, свидетельствуют о межвидовых отличиях *S. aureus* и *S. epidermidis* по способности формировать биопленки, подтверждая хорошо известное гено- и фенотипическое своеобразие коагулазопозитивных и коагулазонегативных стафилококков, с другой стороны, указывают на возможность наличия видовых особенностей генетической детерминации и/или регуляции экспрессии БПО у стафилококков разной таксономической принадлежности. Характеризуя в целом влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на формирование биопленок клиническими штаммами стафилококков, необходимо отметить, что, несмотря на выявленную меж- и внутривидовую вариабельность реакции *S. aureus* и *S. epidermidis* и ее разнонаправленность (подавление, индифферентность, стимуляция БПО), синтетический пептид ZP2 (в концентрации 10 мкг/мл) оказывал преимущественно ингибирующее действие на способность стафилококков образовывать биопленки независимо от их таксономической принадлежности. Сложная (вероятно, поликомпонентная) система генетического контроля БПО стафилококками пока не позволяет четко определить на этих бактериях точку приложения («биомишень») синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2. Возможно, его действие на стафилококки реализуется не по одному, а по нескольким «каналам влияния».

Кроме того, мы сопоставили векторы изменения репродуктивного потенциала (РП) и биопленкообразования (БПО) у изученных штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* (табл. 7 и 8).

Таблица 7. Поливекторность влияния синтетического пептида ZP2 на репродуктивный потенциал (РП) и биопленкообразование (БПО) клинических штаммов *S. aureus*

Клинические штаммы <i>S. aureus</i>	Вектор изменения РП	Вектор изменения БПО
<i>S. aureus</i> Kur 1	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 2	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 4	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 5	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 6	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 8	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 9	↓	↑
<i>S. aureus</i> Kur 10	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 11	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 14	↓	0
<i>S. aureus</i> Kur 15	↓	↓
<i>S. aureus</i> Kur 19	0	0
<i>S. aureus</i> Sim 89	↓	↓
<i>S. aureus</i> Sim 96	0	↓
<i>S. aureus</i> Sim 97	↓	↓
<i>S. aureus</i> Sim 112	↓	↓
<i>S. aureus</i> Sim 140	↓	↓
<i>S. aureus</i> Sim 763	↓	↓
<i>S. aureus</i> Sim 930	↓	↑
<i>S. aureus</i> Sim 938	↓	↓
<i>S. aureus</i> Ol-3	↓	↓
<i>S. aureus</i> Ol-6	↓	0
<i>S. aureus</i> PC11	↓	↓
<i>S. aureus</i> PC14	↓	0

Обозначения: ↓ – ингибирование признака; ↑ – стимуляция признака; 0 – признак не изменялся (индифферентность).

Таблица 7. Поливекторность влияния синтетического пептида ZP2 на репродуктивный потенциал (РП) и биопленкообразование (БПО) клинических штаммов *S. epidermidis*

Клинические штаммы <i>S. epidermidis</i>	Вектор изменения РП	Вектор изменения БПО
<i>S. epidermidis</i> TV143	↓	0
<i>S. epidermidis</i> TV149	↓	↓
<i>S. epidermidis</i> TV197	↓	↑
<i>S. epidermidis</i> Sim 64	↓	↑
<i>S. epidermidis</i> Sim 171	↓	↓
<i>S. epidermidis</i> Sim 172	↓	0
<i>S. epidermidis</i> PC16	↑	↓
<i>S. epidermidis</i> PC17	↑	↓
<i>S. epidermidis</i> PC21	0	↓
<i>S. epidermidis</i> Kur2/2	↓	↑
<i>S. epidermidis</i> Kur16	↑	↓
<i>S. epidermidis</i> Kur18	↓	0

Обозначения: ↓ – ингибирование признака; ↑ – стимуляция признака; 0 – признак не изменялся (индифферентность).

Проведенное сравнение указывает на то, что, несмотря на наличие штаммового разнообразия ответных реакций, синтетический пептид ZP2 у всех изучаемых штаммов или снижал рост и размножение бактерий или их биопленкообразование, при этом штаммы *S. aureus*, как правило, имели сочетание этих двух эффектов, а у *S. epidermidis* наблюдался либо тот, либо другой эффект. При этом у всех изученных клинических изолятов стафилококков не выявлено сочетанного присутствия индифферентных или стимулирующих ответов.

Таким образом, синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ - ZP2, обладает антибактериальной активностью, и имеет как минимум 2 ме-

ханизма действия на бактерии: снижает их репродуктивный потенциал и биопленкообразование, при этом оба этих эффекта не взаимосвязаны и, очевидно, реализуются через разные механизмы, хотя, в конечном итоге, могут способствовать санации инфицированных тканей.

Эти экспериментальные данные корреспондируют с результатами клинических наблюдений, которые указывают на то, что в условиях *in vivo* у больных с дисбактериозом влагалища использование синтетического пептида ZP2 приводило к нормализации параметров влагалищной микрофлоры, подавляя развитие потенциально патогенных бактерий в указанном биотопе [46].

Поскольку ГМ-КСФ включен в развитие воспалительной реакции, нельзя исключить «глубокий биологический смысл» наличия у активного центра данного цитокина не только иммуностропных, но и антибактериальных свойств, сочетанная реализация которых в очаге повреждения тканей может способствовать восстановлению их целостности.

Учитывая, что ГМ-КСФ относится к факторам роста и обладает высоким пролиферативно-дифференцировочным потенциалом (и, возможно, не только в отношении ряда иммунокомпетентных клеток и их предшественников), логично предположить наличие у активного центра данного цитокина и его синтетического аналога репарационных свойств.

Репарационные эффекты синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2.

В модельных экспериментах на лабораторных животных у синтетического пептида ZP2 выявлены выраженные репарационные свойства, о чем свидетельствовало ускоренное заживление у них раневого дефекта [47-49].

Одно из исследований проведено на 80 лабораторных мышах, ♂, возрастом 3-4 месяца, весом 20-25 гр. В эксперименте животные были разделены на 8 групп (по 10 мышей в каждой): 1 – контрольная группа – без лечения, 2 – опытная группа № 1 – раны, обработанные основой для геля (2% раствор целлюлозы), 3-8 – опытные группы № 2-7 – соответственно раны обрабатывались лекарственной мазью «Солкосерил», гелем, содержащим фетальные клетки фенотипа CD34+45^{dim}, гелем с дефенсином LL37, гелем с дефенсином MNP1-3, гелем с синтетическими пептидами ZP 1 (химическая формула -LYS GLY PRO LEY THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS CYS PRO) и ZP 2 (химическая формула -THR NLE NLE ALA SER HIS TYR LYS GLN HIS

CYS PRO).

Полученные данные показали, что гелевая основа не оказывала существенного влияния на скорость заживления ран (рис. 6).

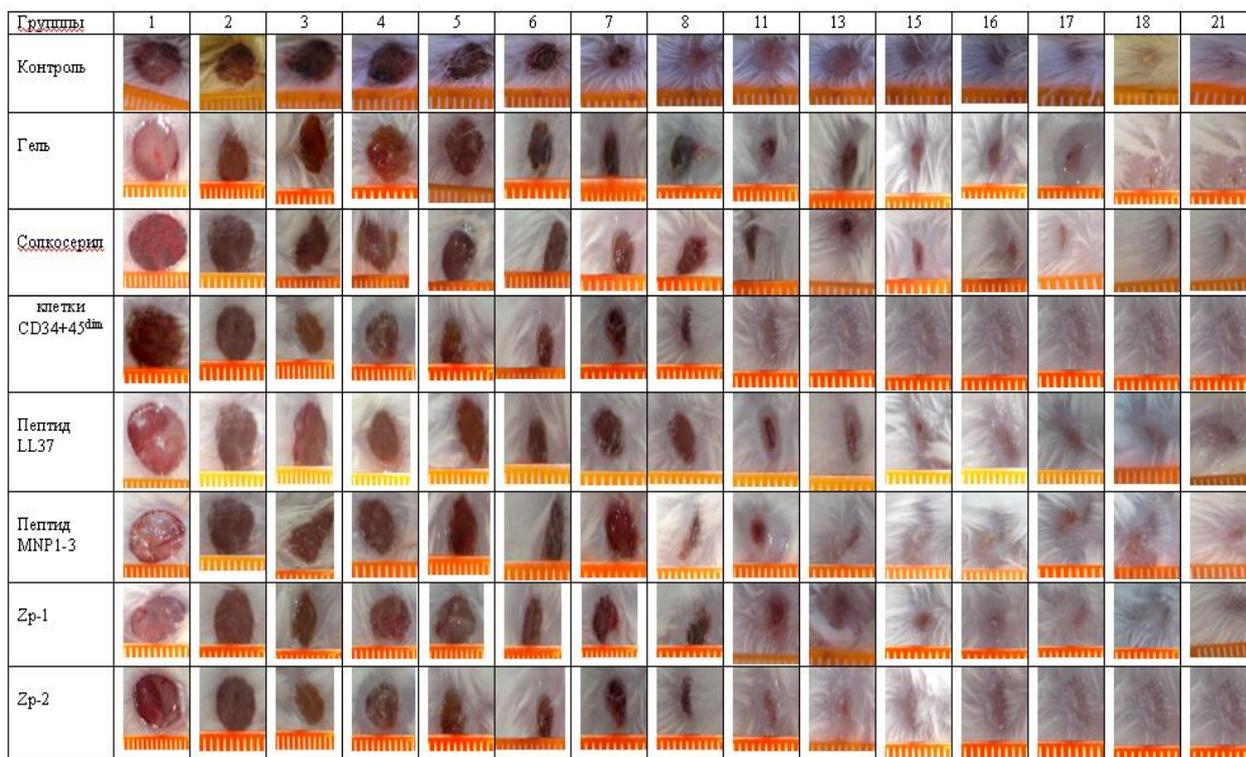


Рис. 6. Изменение площади ран у животных в изучаемых группах в динамике репарационного процесса.

Из представленных на рисунке 6 данных видно, что скорость репаративных процессов в 3 и 7 опытных группах значительно опережают заживление ран в контроле и других опытных группах.

При обработке раны «Солкосерилом» репаративный процесс сокращался на 2 дня. Обработка ран различными дефенсинами и синтетическим пептидом ZP1 также не оказывали существенного влияния на активность репарационного процесса. Раны же у животных в двух группах, а именно, обработанные препаратом клеток фенотипа CD34+45^{dim} и синтетическим пептидом ZP 2 (аналог активного центра ГМ-КСФ), заживали значительно быстрее, чем в контрольных группах. Уже на 10-13 сутки эксперимента в этих двух группах наблюдалась эпителизация ран, в отличие от контрольных и других групп, в которых заживление ран наблюдалось только к 15-17 суткам после нанесения травмы. Проведенные гистологические исследования взятых образцов показывают, что в контроле и опытных группах №№ 2, 4-6, где использовали для лечения мазь «Солкосерил» и другие кон-

трольные препараты, процессы заживления ран проходили медленнее (замедление фибропластической реакции) и сопровождалось вторичным заносом инфекции. Отличительной особенностью ран у животных опытных групп № 3 и 7 (с использованием препарата клеток фенотипа CD34+45^{dim} и синтетического пептида ZP2) являлось более раннее отторжение некроза с отсутствием воспалительной реакции во все сроки исследования. Показано, что препарат клеток фенотипа CD34+45^{dim} и пептид ГМ-КСФ быстро и эффективно останавливали тканевое кровотечение, способствовали уменьшению массы некротизированной ткани и более быстрому заживлению раневой поверхности без нагноения.

Эти экспериментальные данные были подтверждены в клинических наблюдениях, где регистрировалось ускоренное заживление раневых дефектов у женщин после электроэксцизии шейки матки после оперативного вмешательства при интраэпителиальной дисплазии при наружном применении синтетического пептида ZP2 [46, 50].

Заключение

Изложенные в настоящем обзоре экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о наличии у синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ широкого спектра иммунобиологических свойств, включающего иммуномодулирующую, антибактериальную и репарационную активность. Следует отметить, что в настоящее время отсутствуют сведения о прямом антимикробном действии нативной молекулы ГМ-КСФ и его рекомбинантных форм в отношении грампозитивной и грамотрицательной микрофлоры, в частности микрококков, стафилококков и энтеробактерий (эшерихии). Вместе с тем, вполне возможно, что в условиях *in vivo* (в том числе в очаге воспаления, где в большом количестве присутствуют протеазы/пептидазы разных классов) при ограниченном протеолизе из цельной молекулы ГМ-КСФ могут высвобождаться фрагменты цитокина (например, его активный центр), обладающие иными свойствами, не присущими исходной молекуле указанного фактора роста. Представленные данные об антибактериальных эффектах синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ – пептида ZP2 служат аргументами в пользу этого предположения. Кстати, хорошо известно, что аналогично ведет себя лактоферрин, отщепляющий под действием трипсина лактоферрицин – пептид, проявляющий более выраженное, чем ис-

ходная молекула белка, бактерицидное действие.

Наличие у синтетического аналога активного центра ГМ-КСФ уникальной комбинации описанных иммунобиологических свойств позволяет рекомендовать его как основу для создания лекарственных препаратов нового поколения, обладающих плеiotропными эффектами, которые могут найти широкое применение в клинике при терапии иммунозависимых, инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе эндогенной природы, а также при лечении раневой инфекции, термической и механической травм.

Необходимо учесть, что получение синтетического низкомолекулярного пептида, являющегося аналогом активного центра ГМ-КСФ, процесс значительно менее дорогостоящий, чем получение нативного цитокина из стимулированных фитогемагглютинином лейкоцитов костного мозга и его рекомбинантных форм. В то же время чистота получаемого целевого продукта неизмеримо выше, даже по сравнению с производством рекомбинантных форм ГМ-КСФ, что определяется особенностями технологии контролируемого синтеза пептидов.

В заключение подчеркнем, что уже сегодня синтетический пептид активного центра ГМ-КСФ входит в состав нескольких косметических препаратов – АЦЕГРАМ-спрей и АЦЕГРАМ-гель, которые используются в качестве репаративных средств в клинической практике [46, 50, 51].

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008. 552с.
2. Козлов В.А., Борисов А.Г., Смирнова С.В., Савченко А.А. Практические аспекты диагностики и лечения иммунных нарушений: Руководство для врачей. Новосибирск: Наука, 2009. 274с.
3. Жеребцова Н.Ю., Валишин Д.А., Мавзютов А.Р. Провоспалительные цитокины при острых кишечных инфекциях, вызванных энтеробактериями у детей. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2007. 3. 48-52.
4. Freyer G., Ligneau B., Trillet-Lenoir V. Colony-stimulating factors in the prevention of solid tumors induced by chemotherapy in patients with febrile neutropenia. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 1998. 10: 3-9.
5. Cruz A.F., Santelises M. A., Espinosa O. R., Espinosa D. M., Castillo B. M., Payan J. B., Pando R. H. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: not just another haematopoietic growth factor. *Med. Oncol.* 2014. 31: 774-788.
6. van Nieuwenhuijze A., Koenders M., Roeleveld D., Sleeman M. A., van den Berg W., Wicks I. P. GM-CSF as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Molecular Immunology.* 2013. 56: 675-682.
7. Burgess, A.W., Camakaris J., Metcalf, D. Purification and properties of colony-stimulating factor from mouse lung-conditioned medium. *Journal of Biological Chemistry.* 1977. 252:

- 1998-2003.
8. Fukuzawa H., Sawada M., Kayahara T. et al. Identification of GM-CSF in Paneth cells using single-cell RT-PCR. *Biochem Biophys Res Commun.*, 2003, no. 312, pp. 897-902.
 9. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood.* 2008. 111: 485-491.
 10. Conti L., Gessani S. GM-CSF in the generation of dendritic cells from human blood monocyte precursors: recent advances. *Immunobiology.* 2008. 213: 859-870.
 11. Hamilton J.A., Anderson G.P. GM-CSF biology. *Growth Factors.* 2004. 22: 225-231.
 12. Xing Z., Braciak T., Ohkawara Y. et al. Gene transfer for cytokine functional studies in the lung: the multifunctional role of GM-CSF in pulmonary inflammation. *J Leukoc Biol.* 1996. 59: 481-488.
 13. Castagnola E., Dufour C. Role of G-CSF and GM-CSF in the management of infections in preterm newborns: an update. *Early Human Development.* 2014. 90. 2: 15-17.
 14. Chen J., Ca'rcamo J.M., Golde D.W. The alpha subunit of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor interacts with c-Kit and inhibits c-Kit signalling. *J Biol Chem.* 2006. 281: 22421-22426.
 15. Morstyn G., Burgess A.W. Hemopoietic growth factors: A review. *Cancer Res.* 1988. 48: 5624-5637.
 16. Domen J., Weissman I.L. Hematopoietic stem cells need two signals to prevent apoptosis; BCL-2 can provide one of these, Kitl/c-Kit signalling the other. *J. Exp. Med.* 2000. 192: 1707-1718.
 17. Dewas C., Dang P.M., Gougerot-Pocidallo M.A., El-Benna J. TNF-alpha induces phosphorylation of p47 (phox) in human neutrophils: partial phosphorylation of p47phox is a common event of priming of human neutrophils by TNF-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J. Immunol.* 2003. 171 (8): 4392-4398.
 18. Kutsuna H., Suzuki K., Kamata N. et al. Actin reorganization and morphological changes in human neutrophils stimulated by TNF, GM-CSF, and G-CSF: the role of MAP kinases. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2004. 286 (1): 55-64.
 19. Armitage J.O. Emerging applications of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood.* 1998. 92: 4491-4508.
 20. Gomez-Cambronero J., Horn J., Paul C.C., Baumann M.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a chemoattractant cytokine for human neutrophils: involvement of the ribosomal p70 S6 kinase signaling pathway. *J. Immunol.* 2003. 171 (12): 846-855.
 21. Ueno H., Klechevsky E., Morita R. et al., Cao T., Matsui T., Di Pucchio T., Connolly J., Fay J.W., Pascual V., Palucka A.K., Banchereau J. Dendritic cell subsets in health and disease. *Immunol Rev.* 2007. 219: 118-142.
 22. Miah M.A., Yoon C.H., Kim J. et al. CISH is induced during DC development and regulates DC-mediated CTL activation. *Eur. J. Immunol.* 2012. 42: 58-68.
 23. Freyer G., Ligneau B., Trillet-Lenoir V. Colony-stimulating factors in the prevention of solid tumors induced by chemotherapy in patients with febrile neutropenia. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 1998. 10: 3-9.
 24. Sun X., Hodge L.M., Jones H.P. et al. Co-expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor with antigen enhances humoral and tumor immunity after DNA vaccination. *Vaccine.* 2002. 20: 1466-1474.
 25. Hamilton J.A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2008. 8: 533-544.
 26. Szeliga J., Daniel D.S., Yang C.H. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-mediated innate responses in tuberculosis. *Tuberculosis,* 2008, no. 88, pp. 7-20.
 27. Жемчугов В.Е., Майоров В.А., Зурочка А.В., Яровинский Б.Г., Штивельбанд М.И., Румянцев А.Г., Чукичев А.В., Ерохин В.П. Синтетический полипептид, способ получения и средство для культивирования на его основе. Патент РФ № 2061699. Бюл. 1996. № 16.
 28. Жемчугов В.Е., Румянцев А.Г., Владимирская Е.Б., Кондрашин Ю.И., Зурочка А.В.

- Стимулятор роста костно-мозговых клеток человека. Патент РФ № 2136308. Бюл. 1999. № 25.
29. Жемчугов В.Е. Как мы делали химические вакцины / Записки о современных охотниках за микробами. М.: Наука, 2004. 349с.
 30. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови. Патент РФ № 2465001. Бюл. 2012. №30.
 31. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Костоломова Е.Г., Суховой Ю.Г. Влияние клеток фенотипа CD34+CD45dim и синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ на дифференцировку стволовых клеток *in vitro*. Российский иммунологический журнал. 2012. Т. 6 (14). №. 3(1): 80-81.
 32. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукарт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания лекарств нового поколения с комбинированными эффектами. Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19). 2(1): 433-435.
 33. 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: 11с. [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/ZAV-2015-4.pdf>).
 34. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукарт В.В., Гриценко В.А., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Трулев А.С., Черешнев В.А. Дозозависимое влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ_КСФ – ZP2) на индуцированный апоптоз моноцитов. Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19). 3: 55-59.
 35. Idziorek T., Estaquier J., De Bels F., Ameisen J.C. YOPRO-1 permits cytofluorometric analysis of programmed cell death (apoptosis) without interfering with cell viability. J. Immunol. Methods. 1995. 185 (2): 249-258.
 36. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г., Аргунова Е.Г., Субботин А.М., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Антибактериальные свойства синтетических пептидов активного центра GM-CSF. Цитокины и воспаление. 2010. 9 (4): 32-34.
 37. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения бактерицидной активности. Патент РФ № 2448725. Бюл. 2012. №12.
 38. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Костоломова Е.Г., Добрынина М.А., Гриценко В.А. Характеристика антибактериальных, иммуотропных и репарационных свойств синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ, различных дефенсинов и веществ, полученных из супернатантов CD34+CD45dim клеток предшественников гемопоэза. Вестник уральской медицинской академической науки. 2012. 4 (41): 201-202.
 39. Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Особенности влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ на рост грамположительных кокков *in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 1: 1-10 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
 40. Добрынина М.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Гриценко В.А. Сравнительный анализ влияния синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора – ZP2 на рост музейных культур бактерий родов *Staphylococcus* и *Escherichia in vitro*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 2: 1-10 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/>

[Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf](#)).

41. Зурочка А.В., Гриценко В.А., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б. Влияние синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ – ZP2 на кинетику развития популяций грамположительных кокков и энтеробактерий в культуре. Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). № 2(2): 30-35.
42. Кислухина О.В., Калунянц К.А., Аленова Д.Ж. Ферментативный лизис микроорганизмов. Алма-Ата: Рауан, 1990. 200 с.
43. Yeaman M.R., Yount N.Y. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. Pharmacol. Rev. 2003. 55: 27-55.
44. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П. Анализ чувствительности клинических изолятов стафилококков к синтетическому пептиду активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). 3(1): 82-85.
45. Гриценко В.А., Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П. Влияние синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) на формирование биопленок клиническими изолятами стафилококков. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2015. 4: 1-11 [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/VAG-2015-4.pdf>).
46. Зуева Е.Б., Гольцова И.А., Зурочка А.В., Зурочка В.А., Мякишев К.И., Зайнетдинова Л.Ф. Изучение влияния АЦЕГРАМ - спрея (синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ) на характер регенеративно-пластических процессов шейки матки и микрофлору влагалища после процедуры-иссечения аномальной ткани шейки у женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией. Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9 (18). №2(1): 287-290.
47. Зурочка А.В., Суховой Ю.Г., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Петров С.А., Унгер И.Г., Костоломова Е.Г. Способ повышения репаративной активности. Патент РФ № 2455020. Бюл. 2012. №19.
48. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Костоломова Е.Г., Суховой Ю.Г., Колобов А.А., Симбирцев А.С.. Сравнительные эффекты клеток фенотипа CD34+CD45dim и синтетических пептидов активного центра GM-CSF на процессы репарации кожной раны в эксперименте. Цитокины и воспаление. 2012. 11 (4): 21-25.
49. Зурочка В.А., Зурочка А.В., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Гриценко В.А.. Оценка влияния различных комбинаций синтетических пептидов активного центра ГМ-КСФ и биологически-активных веществ (дефенсинов, лизоцима, интерцида и супернатантов клеток CD34⁺) на антибактериальные, иммуностропные и репарационные свойства. Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9(18). №.2(1): 239-240.
50. Гольцова И.А.. Зуева Е.Б., Зурочка А.В.. Цитологические и антибактериальные эффекты ГМ-КСФ при репаративно-пластических процессах шейки матки после хирургического лечения. Российский иммунологический журнал. 2014. Т. 8(17). №2(1): 29-32.
51. Зурочка А.В., Зурочка В.А., Зуева Е.Б., Добрынина М.А., Дукарт В.В., Гриценко В.А. Синтетический пептид активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) как основа для создания косметических средств нового поколения с комбинированными эффектами – АЦЕГРАМ-ГЕЛЬ и АЦЕГРАМ-СПРЕЙ. Российский иммунологический журнал. 2016. Т. 10 (19). 3: 59-62.

Поступила 18.05.2016

(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;

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)77-05-12; E-mail: vag59@mail.ru

LITERATURA

1. Ketlinskij S.A., Simbircev A.S. Citokiny. SPb.: Foliant, 2008. 552s.
2. Kozlov V.A., Borisov A.G., Smirnova S.V., Savchenko A.A. Prakticheskie aspekty diagnostiki i lechenija immunnyh narushenij: Rukovodstvo dlja vrachej. Novosibirsk: Nauka, 2009. 274s.
3. Zherebcova N.Ju., Valishin D.A., Mavzjutov A.R. Provospalitel'nye citokiny pri ostryh kischechnyh infekcijah, vyzvannyh jenterobakterijami u detej. Zhurn. mikrobiol., jepidemiol. i immunobiol. 2007. 3. 48-52.
4. Freyer G., Ligneau B., Trillet-Lenoir V. Colony-stimulating factors in the prevention of solid tumors induced by chemotherapy in patients with febrile neutropenia. Int. J. Antimicrob. Agents. 1998. 10: 3-9.
5. Cruz A.F., Santelises M. A., Espinosa O. R., Espinosa D. M., Castillo B. M., Payan J. B., Pando R. H. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: not just another haematopoietic growth factor. Med. Oncol. 2014. 31: 774-788.
6. van Nieuwenhuijze A., Koenders M., Roeleveld D., Sleeman M. A., van den Bergb W., Wicks I. P. GM-CSF as a therapeutic target in inflammatory diseases. Molecular Immunology. 2013. 56: 675-682.
7. Burgess, A.W., Camakaris J., Metcalf, D. Purification and properties of colony-stimulating factor from mouse lung-conditioned medium. Journal of Biological Chemistry. 1977. 252: 1998-2003.
8. Fukuzawa H., Sawada M., Kayahara T. et al. Identification of GM-CSF in Paneth cells using single-cell RT-PCR. Biochem Biophys Res Commun., 2003, no. 312, pp. 897-902.
9. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. Blood. 2008. 111: 485-491.
10. Conti L., Gessani S. GM-CSF in the generation of dendritic cells from human blood monocyte precursors: recent advances. Immunobiology. 2008. 213: 859-870.
11. Hamilton J.A., Anderson G.P. GM-CSF biology. Growth Factors. 2004. 22: 225-231.
12. Xing Z., Braciak T., Ohkawara Y. et al. Gene transfer for cytokine functional studies in the lung: the multifunctional role of GM-CSF in pulmonary inflammation. J Leukoc Biol. 1996. 59: 481-488.
13. Castagnola E., Dufour C. Role of G-CSF and GM-CSF in the management of infections in preterm newborns: an update. Early Human Development. 2014. 90. 2: 15-17.
14. Chen J., Ca'rcamo J.M., Golde D.W. The alpha subunit of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor interacts with c-Kit and inhibits c-Kit signalling. J Biol Chem. 2006. 281: 22421-22426.
15. Morstyn G., Burgess A.W. Hemopoietic growth factors: A review. Cancer Res. 1988. 48: 5624-5637.
16. Domen J., Weissman I.L. Hematopoietic stem cells need two signals to prevent apoptosis; BCL-2 can provide one of these, Kitl/c-Kit signalling the other. J. Exp. Med. 2000. 192: 1707-1718.
17. Dewas C., Dang P.M., Gougerot-Pocidallo M.A., El-Benna J. TNF-alpha induces phosphorylation of p47 (phox) in human neutrophils: partial phosphorylation of p47phox is a common event of priming of human neutrophils by TNF-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. J. Immunol. 2003. 171 (8): 4392-4398.
18. Kutsuna H., Suzuki K., Kamata N. et al. Actin reorganization and morphological changes in

- human neutrophils stimulated by TNF, GM-CSF, and G-CSF: the role of MAP kinases. *Am J Physiol. Cell Physiol.* 2004. 286 (1): 55-64.
19. Armitage J.O. Emerging applications of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood.* 1998. 92: 4491-4508.
 20. Gomez-Cambronero J., Horn J., Paul C.C., Baumann M.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a chemoattractant cytokine for human neutrophils: involvement of the ribosomal p70 S6 kinase signaling pathway. *J. Immunol.* 2003. 171 (12): 846-855.
 21. Ueno H., Klechevsky E., Morita R. et al., Cao T., Matsui T., Di Pucchio T., Connolly J., Fay J.W., Pascual V., Palucka A.K., Banchereau J. Dendritic cell subsets in health and disease. *Immunol Rev.* 2007. 219: 118-142.
 22. Miah M.A., Yoon C.H., Kim J. et al. CISH is induced during DC development and regulates DC-mediated CTL activation. *Eur. J. Immunol.* 2012. 42: 58-68.
 23. Freyer G., Ligneau B., Trillet-Lenoir V. Colony-stimulating factors in the prevention of solid tumors induced by chemotherapy in patients with febrile neutropenia. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 1998. 10: 3-9.
 24. Sun X., Hodge L.M., Jones H.P. et al. Co-expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor with antigen enhances humoral and tumor immunity after DNA vaccination. *Vaccine.* 2002. 20: 1466-1474.
 25. Hamilton J.A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2008. 8: 533-544.
 26. Szeliga J., Daniel D.S., Yang C.H. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-mediated innate responses in tuberculosis. *Tuberculosis*, 2008, no. 88, pp. 7-20.
 27. Zhemchugov V.E., Majorov V.A., Zurochka A.V., Jarovinskij B.G., Shtivel'band M.I., Rumjancev A.G., Chukichev A.V., Erohin V.P. Sinteticheskij polipeptid, sposob poluchenija i sredstvo dlja kul'tivirovanija na ego osnove. Patent RF № 2061699. *Bjul.* 1996. № 16.
 28. Zhemchugov V.E., Rumjancev A.G., Vladimirskaja E.B., Kondrashin Ju.I., Zurochka A.V. Stimuljator rosta kostno-mozgovyh kletok cheloveka. Patent RF № 2136308. *Bjul.* 1999. № 25.
 29. Zhemchugov V.E. Kak my delali himicheskie vakciny / Zapiski o sovremennyh ohotnikah za mikrobnami. M.: Nauka, 2004. 349s.
 30. Zurochka A.V., Suhovej Ju.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G. Sposob povyshenija proliferativnoj aktivnosti limfocitov perifericheskoj krvi. Patent RF № 2465001. *Bjul.* 2012. №30.
 31. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Kostolomova E.G., Suhovej Ju.G. Vlijanie kletok fenotipa CD34+CD45dim i sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF na differencirovku stvolovyh kletok in vitro. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2012. T. 6 (14). №. 3(1): 80-81.
 32. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukart V.V., Gricenko V.A. Sinteticheskij peptid aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) kak osnova dlja sozdanija lekarstv novogo pokolenija s kombinirovannymi jeffektami. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2016. T. 10 (19). 2(1): 433-435.
 33. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukart V.V., Cherkasov S.V., Gricenko V.A. Vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) na produkciju citokinov nejtrofilami perifericheskoj krvi cheloveka. *Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN.* 2015. 4: 11s. [Elektronnyj resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/ZAV-2015-4.pdf>).
 34. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukardt V.V., Gricenko V.A., Kudrjavcev I.V., Serebrjakova M.K., Trulev A.S., Chereshev V.A. Dozozavisimoe vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo

- koloniestimulirujushhego faktora (GM_KSF – ZP2) na inducirovannyj apoptoz monocitov. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2016. T. 10 (19). 3): 55-59.
35. Idziorek T., Estaquier J., De Bels F., Ameisen J.C. YOPRO-1 permits cytofluorometric analysis of programmed cell death (apoptosis) without interfering with cell viability. J. Immunol. Methods. 1995. 185 (2): 249-258.
 36. Zurochka A.V., Suhovej Ju.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G., Argunova E.G., Subbotin A.M., Kolobov A.A., Simbircev A.S. Antibakterial'nye svojstva sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GMCSF. Cito-kiny i vospalenie. 2010. 9 (4): 32-34.
 37. Zurochka A.V., Suhovej Ju.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G. Sposob povyshenija baktericidnoj aktivnosti. Patent RF № 2448725. Bjul. 2012. №12.
 38. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Kostolomova E.G., Dobrynina M.A., Gricenko V.A. Harakteristika antibakterial'nyh, immunotropnyh i reparacionnyh svojstv sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF, razlichnyh defensinov i veshhestv, po-luchennyh iz supernatantov CD34+CD45dim kletok predshestvennikov gemopoeza. Vestnik ural'skoj medicinskoj akademicheskoy nauki. 2012. 4 (41): 201-202.
 39. Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zurochka A.V., Gricenko V.A. Osobennosti vlijaniya sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF na rost grampolozhitel'nyh kokkov in vitro. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 1: 1-10 [Elektronnyj resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-1/Articles/VAZ-2015-1.pdf>).
 40. Dobrynina M.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Gricenko V.A. Cravnitel'nyj analiz vlijaniya sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora – ZP2 na rost muzejnyh kul'tur bakterij rodov Staphylococcus i Escherichia in vitro. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 2: 1-10 [Elektronnyj resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-2/Articles/DMV-2015-2.pdf>).
 41. Zurochka A.V., Gricenko V.A., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Zueva E.B. Vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF – ZP2 na kinetiku razvitija populjacija grampolozhitel'nyh kokkov i jenterobakterij v kul'ture. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2015. T. 9 (18). № 2(2): 30-35.
 42. Kisluhina O.V., Kalunjanc K.A., Alenova D.Zh. Fermentativnyj lizis mikroorganizmov. Alma-Ata: Rauan, 1990. 200 s.
 43. Yeaman M.R., Yount N.Y. Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance. Pharmacol. Rev. 2003. 55: 27-55.
 44. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gricenko V.A., Tjapaeva Ja.V., Belozerceva Ju.P. Analiz chuvstvitel'nosti klinicheskikh izoljatov stafilokokkov k sinteticheskomu peptidu aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF). Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2015. T. 9 (18). 3(1): 82-85.
 45. Gricenko V.A., Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Tjapaeva Ja.V., Belozerceva Ju.P., Kurlaev P.P. Vlijanie sinteticheskogo peptida aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo koloniestimulirujushhego faktora (GM-KSF) na formirovanie bioplenok klinicheskimi izoljatami stafilokokkov. Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN. 2015. 4: 1-11 [Elektronnyj resurs] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2015-4/Articles/VAG-2015-4.pdf>).
 46. Zueva E.B., Gol'cova I.A., Zurochka A.V., Zurochka V.A., Mjakishev K.I., Zajnetdinova L.F. Izuchenie vlijaniya ACEGRAM - spreja (sinteticheskogo peptida aktivnogo centra GM-KSF) na karakter regenerativno-plasticheskikh processov shejki matki i mikrofloru vlagalishha posle procedury-issechenija anomal'noj tkani shejki u zhenshhin s cervikal'noj inrajepitelial'noj neoplaziej. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2015. T. 9 (18). №2(1):

287-290.

47. Zurochka A.V., Suhovej Ju.G., Zurochka V.A., Dobrynina M.A., Petrov S.A., Unger I.G., Kostolomova E.G. Sposob povysheniya reparativnoj aktivnosti. Patent RF № 2455020. Bjul. 2012. №19.
48. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Kostolomova E.G., Suhovej Ju.G., Kolobov A.A., Simbircev A.S.. Sravnitel'nye jeffekty kletok fenotipa CD34+CD45dim i sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-CSF na processy reparacii kozhnoj rany v jeksperimente. Citokiny i vospalenie. 2012. 11 (4): 21-25.
49. Zurochka V.A., Zurochka A.V., Dobrynina M.A., Zueva E.B., Gricenko V.A.. Ocenka vlijaniya razlichnyh kombinacij sinteticheskikh peptidov aktivnogo centra GM-KSF i biologicheski-aktivnyh veshhestv (defensinov, lizocima, intercida i supernatantov kletok CD34+) na antibakterial'nye, immunotropnye i reparacionnye svojstva. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2015. T. 9(18). №2(1): 239-240.
50. Gol'cova I.A., Zueva E.B., Zurochka A.V.. Citologicheskie i antibakterial'nye jeffekty GM-KSF pri reparativno-plasticheskikh processah shejki matki posle hirurgicheskogo lechenija. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2014. T. 8(17). №2(1): 29-32.
51. Zurochka A.V., Zurochka V.A., Zueva E.B., Dobrynina M.A., Dukart V.V., Gricenko V.A. Sinteticheskij peptid aktivnogo centra granulocitarno-makrofagal'nogo kolonie-stimulirujushhego faktora (GM-KSF) kak osnova dlja sozdaniya kosmeticheskikh sredstv novogo pokolenija s kombinirovannymi jeffektami – ACEGRAM-GEL" i ACEGRAM-SPREJ. Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2016. T. 10 (19). 3: 59-62.

Образец ссылки на статью:

Зурочка А.В., Зурочка В.А., Добрынина М.А., Зуева Е.Б., Дукарт В.В., Гриценко В.А., Тяпаева Я.В., Черешнев В.А. Феномен наличия уникальной комбинации иммунобиологических свойств у синтетического аналога активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2016. 2: 30с. [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2016-2/Articles/ZAV-2016-2.pdf>).