

ISSN 1608-4101 (Print)

<https://journals.eco-vector.com/MAJ>



МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

СПЕЦВЫПУСК 2019 МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



Спецвыпуск
Supplement

2019



МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ISSN 1608-4101 (Print)

2019
Спецвыпуск

Научно-практический рецензируемый журнал

<https://journals.eco-vector.com/MAJ>

Учредитель:

ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»

Журнал зарегистрирован
в Министерстве Российской
Федерации по делам печати,
телерадиовещания и средств
массовых коммуникаций.
Свидетельство о регистрации
ПИ № 2-4952 от 17.01.2001

Рекомендован ВАК:

включен в «Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов
и изданий, в которых должны быть
опубликованы основные научные
результаты диссертаций на соис-
сание ученой степени доктора
и кандидата наук»

Индексируется:

Science Index (РИНЦ)
Google Scholar
Ulrich's Periodicals Directory

Адрес редакции:

197376, Санкт-Петербург,
ул. Академика Павлова, 12.
Тел. +7(812)234-68-68.
E-mail: [medicalacademicjournal@
gmail.com](mailto:medicalacademicjournal@gmail.com).
WEB: [https://journals.eco-vector.
com/MAJ](https://journals.eco-vector.com/MAJ)

Архив журнала «Медицинский
академический журнал» размещен
в сети Интернет (www.elibrary.ru,
<https://journals.eco-vector.com/MAJ>)

**Индекс издания по каталогу
«Роспечать» — 57999,
«Пресса России» — 42190**

Формат 60×90¹/₈. Усл.-печ. л. 30,75.
Тираж 45 экз. Цена свободная.
Оригинал-макет изготовлен
ООО «Эко-Вектор»

Отпечатано ООО «Лесник-Принт».
192007, Санкт-Петербург,
Лиговский пр., 201, лит. А, пом. 3Н.
Заказ 00. Подписано в печать
00.00.2019

Полное или частичное воспроиз-
ведение материалов, содержащихся
в настоящем издании, допускается
только с письменного разреше-
ния редакции, ссылка на журнал
обязательна

© ФГБНУ «Институт
экспериментальной медицины»

VII МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ»

27–31 МАЯ 2019

Санкт-Петербург
Россия

ОРГАНИЗАТОРЫ:

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург
Институт нейробиологии им. Макса Планка, Мюнхен, Германия
ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-
Петербург

Российское научное общество иммунологов

Региональное научное общество по нейроиммунологии и нейроиммуномоду-
ляции

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ:

Г.А. Софронов, Санкт-Петербург, Россия — Почетный председатель

Е.А. Корнева, Санкт-Петербург, Россия — Сопредседатель

Х. Векерле, Мюнхен, Германия — Сопредседатель

О.В. Шамова, Санкт-Петербург, Россия — Заместитель сопредседателей

К.З. Деревцова, Санкт-Петербург, Россия — ответственный секретарь

Н. Каваками, Мюнхен, Германия — ответственный секретарь

Н.А. Беляков, Санкт-Петербург, Россия

В.А. Черешнев, Екатеринбург, Россия

В. Гинен, Льеж, Бельгия

М. Нода, Фукуока, Япония

С.К. Соломон, Лос-Анджелес, США

Ю. Оокура, Фукуока, Япония



MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

ISSN 1608-4101 (Print)

2019
Supplement

Scientific and Practical Peer-Reviewed Journal

<https://journals.eco-vector.com/MAJ>

Founder:

Institute of Experimental Medicine

Federal Supervisory Service on
Mass Media, Information
Technologies and Mass
Communication (Roskomnadzor)
PI No. 2-4952 dated 17.01.2001

The Journal is recommended
by the High Attestation Commission
as one of the leading scientific
journals for publications

Indexing:

Russian Science Citation Index
Google Scholar
Ulrich's Periodicals Directory
WorldCat

Editorial Office:

12, Academic Pavlov's street,
Saint Petersburg, 197376, Russia.
Tel. +7(812)234-68-68.
E-mail: [medicalacademicjournal@
gmail.com](mailto:medicalacademicjournal@gmail.com)
WEB: [https://journals.eco-vector.
com/MAJ](https://journals.eco-vector.com/MAJ)

Archive "Medical Academic
Journal" on web-site
www.elibrary.ru, [https://journals.
eco-vector.com/MAJ](https://journals.eco-vector.com/MAJ)

Subscription:

Open Access for all users
on website.
Print version is available via
"Russian Post" service
with index 57999;
"Press of Russia" service
with index 42190

No part of this publication may be
reproduced or transmitted in any form
or by any mean without permission
from the publisher

© Institute of Experimental Medicine

VII INTERNATIONAL SYMPOSIUM "INTERACTION OF THE NERVOUS AND IMMUNE SYSTEMS IN HEALTH AND DISEASE"

27-31 MAY, 2019

Saint Petersburg
Russia

ORGANIZED BY:

Institute for Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia
Max Plank Institute for Neurobiology, Munich, Germany
Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
Russian Society on Immunology
Regional Society on Neuroimmunology and Neuroimmunomodulation in Russia

INTERNATIONAL ORGANIZING COMMITTEE:

G.A. Sofronov, Saint Petersburg, Russia — Honorary Chairperson
Helen A. Korneva, Saint Petersburg, Russia — Co-chairperson
Hartmut Wekerle, Munich, Germany — Co-chairperson
Olga V. Shamova, Saint Petersburg, Russia — Deputy co-chairperson
Kristina Z. Derevtsova, Saint Petersburg, Russia — Executive secretary
Naoto Kawakami, Munich, Germany — Executive secretary
Nikolay A. Belyakov, Saint Petersburg, Russia
Valery A. Chereshev, Ekaterinburg, Russia
Vincent Geenen, Liège, Belgium
Mami Noda, Fukuoka, Japan
Susan Keran Solomon, Los Angeles, USA
Yutaka Oomura, Fukuoka, Japan

mast cell functions inducing exocytosis of compounds normalizing the wound healing processes [7].

In human T-lymphocytes the thymosin β_4 fragments 16–26 and 31–39 induce expression of CD2 antigens which are important for the acceleration of adhesion between T-lymphocytes and other immunocompetent cells [1].

It is wide-spread opinion that the intracellular functions of thymosin β_4 are connected with its ability to regulate the processes of actin polymerization through G-actin monomer sequestration. Binding with G-actin, thymosin β_4 prevents actin filament formation [6]. However, there are reports concerning the participation of thymosin β_4 in physiological events, not connected with seques-

tration of actin, such as inflammation, apoptosis, angiogenesis and wound healing. In some cases the extracellular location of thymosin β_4 has been revealed although pathways of thymosin β_4 releasing from cells are still not discovered. It remains unclear, what kinds of cell surface receptors participate in mediating of thymosin β_4 functions.

It should be noted that thymosin β_4 has great therapeutic potential. Thymosin β_4 and its peptide fragments could be useful for the therapy of diseases related to immune dysfunctions and neurological disturbances.

The research was carried out within the state assignment of FASO of Russia (theme No. AAAA-A18-118012290371-3).

References

1. Abiko T, Sekino H. Synthesis of six common amino acid sequence fragments of thymosin β_4 , β_8 and β_9 and determination of their effects on the low E-rosette forming cells of lupus nephritis patients. *Chem. Pharm. Bull.* 1984;32(1):228-236.
2. Huff T, et al. β -Thymosins, small acidic peptides with multiple functions. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2001;33(3):205-220.
3. Ivanova VP, et al. The effect of protein synthetic fragments on the humoral immune response. *Ukr. Biochim Zh.* 1990;62(5):83-86.
4. Ivanova VP, et al. The role of thymosin β_4 fragment on activation of phagocytic cells. In: *Molecular mechanisms of adaptations*. Makhachkala: IPC DSU; 2008. P. 97–100.
5. Morris DC, et al. Treatment of neurological injury with thymosin β_4 . *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2012;1269(1):110-116.
6. Safer D. The interaction of actin with thymosin β_4 . *J. Muscle Res. Cell Motil.* 1992;13(3):269-271.
7. Sosne G, et al. Biological activities of thymosin β_4 defined by active sites in short peptide sequences. *The FASEB J.* 2010;24 (7):2144-2151.

<https://doi.org/10.17816/MAJ191S1166-168>

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЕПТИДА КЕ НА ДЛИНУ ТЕЛОМЕР ХРОМОСОМ ФГА-СТИМУЛИРОВАННЫХ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

В.Х. Хавинсон^{1, 2, 3}, Н.С. Линькова^{1, 4}, А.А. Пендина⁵, О.А. Ефимова⁵, А.С. Кольцова^{5, 6}, М.И. Крапивин^{5, 6}, А.В. Тихонов⁵, Л.И. Петрова⁵, А.В. Петровская-Каминская^{5, 6}, В.С. Баранов^{5, 6}

¹ Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург;

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург;

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург;

⁴ Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва;

⁵ НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург;

⁶ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

THE EFFECT OF KE PEPTIDE ON THE TELOMERE LENGTH OF PHA-STIMULATED HUMAN LYMPHOCYTES

V.Kh. Khavinson^{1, 2, 3}, N.S. Linkova^{1, 4}, A.A. Pendina⁵, O.A. Efimova⁵, A.S. Koltsova^{5, 6}, M.I. Krapivin^{5, 6}, A.V. Tikhonov⁵, L.I. Petrova⁵, A.V. Petrovskaja-Kaminskaia^{5, 6}, V.S. Baranov^{5, 6}

¹ Saint Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, Saint Petersburg, Russia;

² Pavlov Institute of Physiology of RAS, Saint Petersburg, Russia;

³ North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

⁴ Academy of Postgraduate Education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, Moscow, Russia;

⁵ D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia;

⁶ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Цель работы — изучить влияние пептида КЕ на длину теломер хромосом ФГА-стимулированных лимфоцитов крови мужчин молодого и среднего возраста. В работе использовали лимфоциты периферической крови 11 человек. Для оценки относительной длины теломер метафазных хромосом

проводили флуоресцентную гибридизацию *in situ* с ДНК-зондами, специфичными к теломерным последовательностям хромосом человека. Выявлено 5 случаев достоверного изменения длины теломер лимфоцитов крови. Чаще изменения длины теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов регистрировали у лиц среднего возраста: 4 случая против 1. У лиц среднего возраста пептид КЕ увеличивал длину теломер, если она исходно была снижена, и снижал этот показатель, если он исходно он был выше среднего значения.

Ключевые слова: пептид КЕ; теломеры; лимфоциты; возраст.

The goal of the research is to study the effect of KE peptide on telomere length of PNA-stimulated blood lymphocytes of young and middle-aged men. 11 blood lymphocyte samples were enrolled in the analysis. Relative telomere length was measured using fluorescence *in situ* hybridization with DNA-probes specific to telomere sequences of human chromosomes. 5 cases of significant telomere length alteration were registered. These changes were more frequent registered in middle-aged people: 4 invents cases versus 1. KE peptide increased telomere length in blood lymphocytes of middle-aged people if it was basically low and, vice versa, decreased the basically high telomere length.

Keywords: KE peptide; telomeres; lymphocytes; age.

Введение. Пептиды играют важную роль в регуляции старения организма на тканевом и клеточном уровнях. Ключевым проявлением клеточного старения является уменьшение длины теломер и достижение лимита Хейфлика. Установлено, что длина теломер коррелирует с концентрацией С-пептида в крови в норме и при метаболических нарушениях [6]. Пептид КЕ (Lys-Glu, Вилон) — представитель пептидных тимомиметиков, который был обнаружен в составе полипептидного комплекса Тималина. Пептид КЕ стимулирует клеточный иммунитет и неспецифическую резистентность организма, оказывает активирующее действие на макрофаги, лимфоциты крови, тимоциты и нейтрофилы [3–4]. Пептид КЕ при введении в организм трансгенных мышей подавляет экспрессию онкогена *HER-2/neu* в 2 раза, что сопровождается уменьшением диаметра опухоли [1]. Кроме того, пептид КЕ способствует увеличению доли транскрибируемого эухроматина и снижению количества гетерохроматина в лимфоцитах крови лиц старческого возраста [5]. В связи с этим целью работы стало исследование влияния пептида КЕ на длину теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов крови людей разного возраста.

Материал и методы исследования. В работе использовали лимфоциты периферической крови 5 мужчин молодого (18–22 лет) и 6 мужчин среднего (49–54 лет) возраста. Критерием включения в исследование являлось отсутствие у индивидов табачной, алкогольной и наркотической зависимости, симптомов острой вирусной инфекции в течение месяца до забора крови, хронических заболеваний, а также систематического приема лекарственных препаратов. Культивирование лимфоцитов проводили с использованием полумикрометода по стандартной методике с использованием митогена фитогемагглютинаина (ФГА) [2]. На 48-м часу культивирования во флаконы добавляли пептиды КЕ в конечной концентрации

1000 нг/мл. В контрольные культуры пептид не добавляли. На 71-м часу культивирования во флаконы добавляли 1 % раствор колхицина. Фиксацию суспензии клеток проводили с помощью раствора, состоящего из метанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1. Суспензию клеток раскапывали на охлажденные до +4 °С мокрые предметные стекла над паровой баней.

Для оценки относительной длины теломер метафазных хромосом проводили флуоресцентную гибридизацию *in situ* с ДНК-зондами, специфичными к теломерным последовательностям хромосом человека (Telomere PNA Kit/Cy3, ДАКО, США) и к локусу в коротком плече хромосомы 9 — *CDKN2A* — (AbbottMolecular, США), в качестве реперного зонда. После проведения флуоресцентной гибридизации *in situ* получали фотоизображения метафазных пластинок, на которых с помощью программы ImageJ 1.48v рассчитывали средние значения интенсивности флуоресценции, соответствующие размеру гибридизационного сигнала ДНК-зонда к теломерным последовательностям на хромосомах 1, 9, 16. Для нивелирования влияния конденсации хромосом на результат измерения, вычисляли среднюю относительную длину теломер хромосом, которую определяли путем отношения среднего значения интенсивности флуоресценции гибридизационного сигнала теломер-специфических ДНК-зондов к среднему значению интенсивности флуоресценции гибридизационного сигнала реперного ДНК-зонда. Всего произведено измерение интенсивности флуоресценции 7140 гибридизационных сигналов на 255-ти метафазных пластинках.

Статистический анализ проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism Version 6.01. Для анализа изменений митотического индекса лимфоцитов после воздействия пептидов применяли критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса для

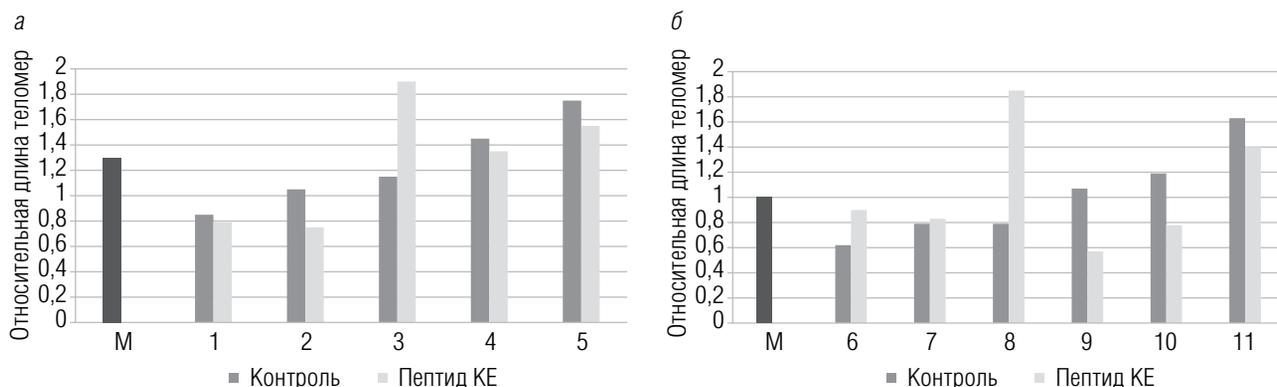


Рис. 1. Относительная длина теломерных районов хромосом лимфоцитов, культивированных без пептида (контроль) и с добавлением пептида КЕ у лиц молодого (а) и среднего (б) возраста. По оси X цифрами обозначены номера индивидов, от которых получены образцы крови. Символом (*) показаны достоверные изменения относительной длины теломер лимфоцитов после воздействия пептида в сравнении с контролем: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$ (критерий Манна – Уитни). Столбец «М» и черная линия на гистограмме обозначают среднее в возрастной группе значение относительной длины теломерных районов хромосом лимфоцитов, культивированных без добавления пептида

таблиц сопряженности. Для анализа изменений относительной длины теломер хромосом ФГА-стимулированных лимфоцитов после воздействия пептидов использовали критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Относительная длина теломер хромосом из ФГА-стимулированных лимфоцитов без воздействия пептида варьировала от 0,86 до 1,75 и от 0,63 до 1,64 у лиц молодого и среднего возраста, соответственно. Однако достоверных различий по этому параметру между группами установлено не было, хотя наблюдалась тенденция к снижению относительной длины теломер в старшей возрастной группе (рис. 1).

После воздействия пептида КЕ было установлено достоверное увеличение относительной длины теломер в ФГА-стимулированных лимфоцитов одного испытуемого молодого возраста (№ 3) на 65 % и у двух лиц среднего

возраста (№ 6, 8) на 46 и 137 %, соответственно. Достоверное уменьшение показателя наблюдалось в ФГА-стимулированных лимфоцитах двух индивидов среднего возраста (№ 9, 10) на 47 и 35 %, соответственно (см. рис. 1).

Заключение. Таким образом, пептид КЕ вызвал изменение длины теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов у 5 из 11 индивидов. В большинстве случаев достоверные изменения длины теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов были зарегистрированы у лиц среднего возраста: 4 случая против 1. При этом была отмечена тенденция к «нормализации» длины теломер ФГА-стимулированных лимфоцитов после воздействия пептида у лиц среднего возраста, то есть к увеличению длины в случае, если ее значение без воздействия было меньше среднего в группе, и уменьшению — если ее значение было больше, чем среднее в группе. У лиц молодого возраста такой тенденции отмечено не было.

Литература

1. Хавинсон В.Х. Пептидная регуляция старения. – СПб.: Наука, 2009. – 50 с.
2. Кузнецова Т.В., Логинова Ю.А., Чиряева О.Г., и др. Цитогенетические методы. Медицинские лабораторные технологии. Т. 2. / Ред. А.И. Карпищенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 792 с.
3. Севостьянова Н.Н., Линькова Н.С., Полякова В.О., и др. Иммуномодулирующее действие вилона и его аналога в культурах клеток тимуса человека и животных // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2012. – № 4. – С. 220–223.
4. Щербак В.А., Патеюк А.В. Влияние вилона на иммунный ответ при остром иммобилизационном стрессе у крыс // Сибирский медицинский журнал. – 2004. – Т. 44. – № 3. – С. 26–29.
5. Khavinson VKh, Lezhava TA, Malinin VV. Effects of short peptides on lymphocyte chromatin in senile subjects. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2004;137(1):78-81.
6. Yang M, Jiang P, Jin C, Wang J. Longer Telomere Length and its Association with Lower Levels of C-Peptide. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:244.