

МОДУЛЯЦИЯ ПЕПТИДОМ HLDF6 ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАКРОФАГОВ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ АГОНИСТОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Даниленко Е.Д., Фадина В.А., Масычева В.И.,
Самуков В.В. *, Костанян И.А. **

Научно-исследовательский конструкторско-технологический институт биологически активных веществ
ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», г. Бердск Новосибирской области,

*НИИ молекулярной биологии ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», пгт. Кольцово Новосибирской
области, Россия

**Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, г. Москва, Россия

Резюме. В культуре клеток проведено исследование влияния шестичленного фрагмента фактора дифференцировки клеточной линии HL-60, HLDF6, на функциональное состояние макрофагов мышей линии C57Bl/6 на фоне введения селективных агонистов опиатных рецепторов μ -, δ - и κ -типа (DAGO, DADLE, Динорфин (1-13)). Показано, что опиатные агонисты обладали способностью усиливать адгезивные свойства и функциональную активность макрофагов при их прямом взаимодействии с клетками. Интенсивность стимуляции определялась типом агониста и, соответственно, опиатного рецептора. Пептид HLDF6 повышал макрофагальную активность при добавлении в среду как на начальном этапе культивирования, так и в момент индукции фагоцитоза. Данные, касающиеся совместного использования HLDF6 и опиатных агонистов, свидетельствуют о взаимодействии пептида и эндогенной опиатной системы.

Ключевые слова: Пептид HLDF6, опиатные агонисты, макрофаги

Danilenko E.D., Fadina V.A., Masysheva V.I., Samukov V.V., Kostanyan I.A.

MODULATION OF FUNCTIONAL MACROPHAGE ACTIVITY BY HLDF6 PEPTIDE UPON ADDING OPIATE RECEPTOR AGONISTS

Abstract. The effect of a hexamer fragment of the peptide differentiation factor of the HL-60 cell line, HLDF6, on functional activity of C57Bl/6 mouse macrophages upon adding selective agonists of μ -, δ - and κ -type opiate receptors (DAGO, DADLE and Dynorphin (1-13)) has been studied in the cell culture. It has been shown that opiate agonists were capable of enhancing adhesive properties and functional activity of macrophages during their direct interaction with cells. The intensity of stimulation depended on the type of the agonist and, respectively, the type of the opiate receptor. HLDF6 peptide enhanced macrophage activity after addition to the culture medium both at the initial cultivation stage and at the moment of phagocytosis induction. The data concerning the combined administration of HLDF6 and opiate agonists suggest the interaction between the peptide and the endogenous opiate system. (*Med. Immunol.*, 2005, vol.7, № 1, pp 77-84)

Введение

Согласно современным представлениям, между нейро-эндокринной и иммунной системами существует тесная двусторонняя связь, основанная на об-

щности регуляторных молекул и их рецепторов. Вероятно, поэтому формирование синдрома наркотической зависимости сопряжено с изменением иммунного статуса организма [26].

Важную роль в реализации связей между нервной, эндокринной и иммунной системами играют опиоидные пептиды. В настоящее время доказано существование опиатных рецепторов μ -, δ - и κ -типа на клетках иммунной системы [5]. Опиатные агонисты (DPDPE, DADLE, deltorphin-1)

Адрес для переписки:

Даниленко Елена Дмитриевна,
633010, г.Бердск Новосибирской области, а/я 112,
НИКТИ БАВ. Тел.: (38341) 5-19-60.
Факс (38341) 5-28-21. E-mail: danilenko@sibmail.ru

в культуре клеток стимулируют пролиферацию В-лимфоцитов, продукцию цитокинов Т-хелперами и макрофагами, изменяют активность естественных киллеров [12]. Есть данные о влиянии опиатов и опиоидных пептидов на продукцию антител спленocyтами [31].

Обнаружено изменение под действием агонистов опиатных рецепторов миграционной, хемотаксической и адгезивной способности фагоцитов [8, 11]. Показано, что морфин и пептиды, имеющие сродство к опиатным рецепторам, модулируют фагоцитоз [6, 25] и усиливают ферментативную активность макрофагов, что проявляется в повышении продукции активных форм кислорода [19] и окислов азота [17]. Как было показано авторами работы [28], ингибирование Fc-зависимого фагоцитоза перитонеальных макрофагов под действием морфина опосредовано, преимущественно, μ - и δ -рецепторами.

Ранее, в процессе исследования пептидного фактора дифференцировки клеточной линии HL-60, HLDF, был идентифицирован шестичленный фрагмент, способный снижать толерантность к морфину [2, 3]. Продемонстрирована возможность взаимодействия пептида HLDF6 с опиатной системой головного мозга. Было показано, что HLDF6 отменял анальгетический эффект агонистов μ - и κ -рецепторов, улучшал формирование и сохранение следа памяти [18]. Однако вопрос о характере взаимодействия пептида с опиатными рецепторами клеток иммунной системы до сих пор не исследовался.

Целью данной работы являлась оценка способности HLDF6 влиять на функцию макрофагов и выяснение роли опиатной системы в этом взаимодействии.

Материалы и методы

В экспериментах были использованы специфические агонисты опиатных рецепторов: агонист μ -рецепторов DAGO (**Tyr-D-Ala-Gly-(N-Me)Phe-Gly-ol**), агонист δ -рецепторов DADLE (**Tyr-D-Ala-Gly-Phe-D-Leu**) и агонист κ -рецепторов динорфин (1-13) (**Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys**). DADLE, DAGO и HLDF6 синтезировали в растворе по специально разработанным схемам. Синтез динорфина (1-13) осуществляли твердофазным методом на стирол-дивинилбензольной смоле Ванга с использованием Nsc-аминокислот [24]. Все пептиды были очищены препаративной обращенно-фазовой хроматографией и охарактеризованы данными аминокислотного анализа, аналитической ВЭЖХ и масс-спектрометрией.

Функцию макрофагов оценивали в краткосрочной культуре клеток, выделенных из перитонеаль-

ной полости мышей линии C57Bl/6. Выделение и культивирование клеток проводили методом [10].

В первой серии экспериментов для оценки влияния на адгезивные свойства фагоцитов агонисты опиатных рецепторов и пептид HLDF6 вносили в инкубационную среду одновременно с макрофагами на начальном этапе культивирования. Клетки культивировали в среде с препаратами в течение 2 ч, после чего среду заменяли свежей, содержащей объект фагоцитоза (эритроциты барана, $1,5 \times 10^6$ ЭБ на мл среды) и продолжали инкубацию еще в течение 1 ч. Во второй серии препараты добавляли на заключительном этапе культивирования, одновременно с объектом фагоцитоза на сформированный клеточный монослой, что позволило оценить влияние пептида HLDF6 на фагоцитарную и метаболическую активность макрофагов [21]. Опиатные агонисты добавляли в культуральную среду в концентрациях 0,005 и 0,05 мкг/мл индивидуально либо в сочетании с HLDF6 (0,005-0,5 мкг/мл).

Активность фагоцитов оценивали по уровню восстановления клетками красителя нитросинего тетразолиевого (НСТ), отражающего уровень окислительно-восстановительного метаболизма фагоцитирующих клеток [21].

Данные экспериментов подвергали статистической обработке с использованием пакета программ "Statgraphics 5.0". В качестве критерия достоверности был выбран t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Установлено, что показатель восстановления нитросинего тетразолиевого в контрольных лунках в разных экспериментах варьировал в пределах от $11,60 \pm 0,92$ до $21,05 \pm 0,44$ относит. единиц (о.е.) $\times 100$, что, по-видимому, объясняется довольно широким диапазоном физиологической нормы для активности ферментов, участвующих в этом процессе (таблица).

Внесение селективных агонистов опиатных рецепторов в культуральную среду на разных стадиях культивирования макрофагов, как правило, приводило к повышению активности клеток. Однако интенсивность эффекта зависела как от типа агониста, так и функционального состояния клеток.

Повышение окислительно-восстановительной активности макрофагов в результате воздействия на начальном этапе культивирования наблюдали после добавления в среду агонистов рецепторов μ - и δ -типа (DAGO, DADLE). Показатели НСТ-теста возрастали на 20-26% после инкубации с DAGO (0,005-0,05 мкг/мл) и на 16%- с DADLE (0,005 мкг/мл) (таблица). Динорфин (1-13), агонист κ -рецепторов, в тех же концентрациях не вызывал достоверно выраженного изменения уровня восстановления НСТ, хотя была отмечена тенденция к повышению показателя при использовании препарата в концентрации 0,005 мкг/мл.

Стимуляция макрофагов под действием опиатных агонистов была обнаружена и в случае инкубации перитонеальных клеток с препаратами в момент инициации фагоцитоза. Наиболее значимые изменения наблюдались после внесения DADLE и динорфина в одной и той же концентрации (0,005 мкг/мл). Увеличение показателя восстановления НСТ в этих группах составляло, соответственно, 19 и 22 % по отношению к контрольному уровню (различия достоверны, $p < 0,05$). В то же время в лунках с внесением DAGO наблюдалась лишь тенденция к повышению показателя НСТ-теста (на 11 и 7% при внесении препарата в концентрации 0,05 и 0,005 мкг/мл, соответственно) (таблица).

По мнению авторов работы [21], повышение восстановления НСТ в результате обработки клеток препаратами на стадии «прилипания» является следствием усиления адгезии макрофагов к пластику, в то время как увеличение показателя после воздействия в начальной стадии фагоцитоза свидетельствует о ферментативной активации клеток, ассоциированной с фагоцитарной активностью. То есть, в наших экспериментах опиатные агонисты усиливали как адгезивные свойства, так и метаболическую активность макрофагов. Эффективной концентрацией в том и другом случае являлась концентрация 0,005 мкг/мл.

Анализ литературных данных показал, что сведения о влиянии опиатных агонистов на адгезию макрофагов практически отсутствуют. Однако есть косвенные свидетельства возможности регуляции опиатами этого процесса, заключающиеся в том, что обработка макрофагов мет-энкефалином усиливает их «распластывание» и, следовательно, изменяет свойства мембран клеток [20].

Данные о влиянии агонистов опиатных рецепторов на Fc-зависимый фагоцитоз свидетельствуют о

преимущественно ингибирующем эффекте μ - и δ -агонистов в системе *in vitro*. Уменьшение числа фагоцитирующих клеток и снижение интенсивности фагоцитоза наблюдали при добавлении в среду морфина, эндаморфинов 1 и 2, DAGO [16, 22, 27, 28], DPDPE, DSLET и мет-энкефалина [7, 27, 28]. Авторами обзора [22] описано ослабление фагоцитарной и окислительной активности макрофагов/моноцитов под действием морфина.

В нашем исследовании агонисты μ - и δ -рецепторов, напротив, усиливали окислительно-восстановительную активность фагоцитирующих макрофагов. Можно предположить, что эти различия могут быть связаны с различиями в условиях проведения эксперимента (спектр использованных доз, тип клеток, условия культивирования и т.д.). Кроме того, несмотря на корреляцию между уровнем метаболической активности фагоцитов и интенсивностью фагоцитоза [4], эти показатели все же отражают разные стадии процесса, отличающиеся, возможно, разной чувствительностью к воздействию опиатных агонистов данного типа.

Повышение окислительно-восстановительной активности макрофагов было обнаружено нами и при добавлении в среду культивирования динорфина. Это согласуется с данными о потенцирующем действии κ -агонистов на фагоцитоз макрофагов, продукцию супероксидных радикалов и окислительный «взрыв», представленными авторами работ [13, 29], хотя, следует отметить, что сведения относительно иммуномодулирующих эффектов динорфина достаточно разноречивы.

Пептид HLDF6, подобно агонистам опиатных рецепторов, усиливал окислительно-восстановительные процессы в клетках при его внесении в среду инкубации как на начальной, так и заключительной стадиях процесса культивирования. Интерес

Табл. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕРИТОНЕАЛЬНЫХ МАКРОФАГОВ МЫШЕЙ C57BL/6 ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В СРЕДЕ С ДОБАВЛЕНИЕМ ОПИАТНЫХ АГОНИСТОВ НА НАЧАЛЬНОЙ (I) И ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОЙ (II) СТАДИИ ПРОЦЕССА

Препарат	Доза, мкг/мл	Показатели НСТ-теста, о.е. x 100	
		I	II
Физиологический раствор	-	17,08±0,65	13,25±0,76
DAGO	0,005	20,56±0,42 *	14,75±1,05
DAGO	0,05	21,58±0,43 *	14,25±1,05
Физиологический раствор	-	21,05±0,44	20,62±0,81
DADLE	0,005	24,50±0,55 *	24,66±1,54 *
Физиологический раствор	-	19,26±1,16	11,60±0,92
Динорфин (1-13)	0,005	22,50±1,19	14,18±0,68 *
Динорфин (1-13)	0,05	18,74±1,14	10,67±0,21

Примечание: * - различия достоверны, по сравнению с контролем (физиологический раствор), $p < 0,05$.

но, что максимальное повышение метаболической активности макрофагов было отмечено при использовании HLDF6 в концентрации, в 10 раз большей, чем доза, вызывающая усиление адгезивных свойств клеток (0,05 и 0,5 мкг/мл, соответственно) (рис.1).

Культивирование макрофагов в среде, содержащей DAGO и HLDF6, в период формирования монослоя, приводило к снижению способности клеток восстанавливать НСТ, по сравнению с показателями, зарегистрированными в лунках с добавлением одного DAGO. Достоверно выраженными эти различия были при соотношении HLDF6 и DAGO 100:1 (0,5 и 0,005 мкг/мл, соответственно) (рис.2).

Ослабление окислительно-восстановительной активности макрофагов было обнаружено и при добавлении в культуральную среду HLDF6 в сочетании с DADLE. В этом случае ингибирующий эффект пептида проявлялся в обеих использованных концентрациях (0,05-0,5 мкг/мл, 10:1-100:1 по отношению к концентрации агониста) (рис.2).

Модулирующий эффект HLDF6 в отношении агониста κ -рецепторов зависел от дозы пептида. Внесение HLDF6 в среду культивирования, содержащую диноρφин, в соотношении 10:1 (0,05 и 0,005 мкг/мл, соответственно) приводило к достоверно выраженному повышению показателей НСТ. Пептид в концентрации 0,5 мкг/мл (100:1 по отношению к кон-

центрации агониста) снижал эти показатели до уровня контроля.

Добавление HLDF6 в культуральную среду одновременно с опиатными агонистами на заключительном этапе культивирования, преимущественно, препятствовало развитию стимулирующего эффекта агонистов (Рис.3).

То есть, данные, полученные при оценке совместного введения HLDF6 и агонистов опиатных рецепторов, свидетельствуют о взаимодействии пептида с системой опиатных рецепторов. Направленность эффекта пептида определялась типом опиатного агониста и функциональным состоянием макрофага, но преобладающим был эффект ингибирования.

Как было показано ранее, пептид HLDF6 не обладал способностью специфически связываться с опиатными μ -, δ - и κ -рецепторами мембран клеток головного мозга крыс [9]. Не обнаружено и рецепторов к HLDF6 на поверхности клеток [2]. В связи с этим, одним из наиболее предпочтительных механизмов действия HLDF6 на макрофаги является его воздействие через систему вторичных менеджеров, в частности, цАМФ.

Известно, что связывание рецептор-специфических агонистов с опиатными рецепторами разных типов на поверхности клетки приводит к снижению активности аденилатциклазы и уровня цАМФ в клетке [15]. Добавление HLDF6 к актив-

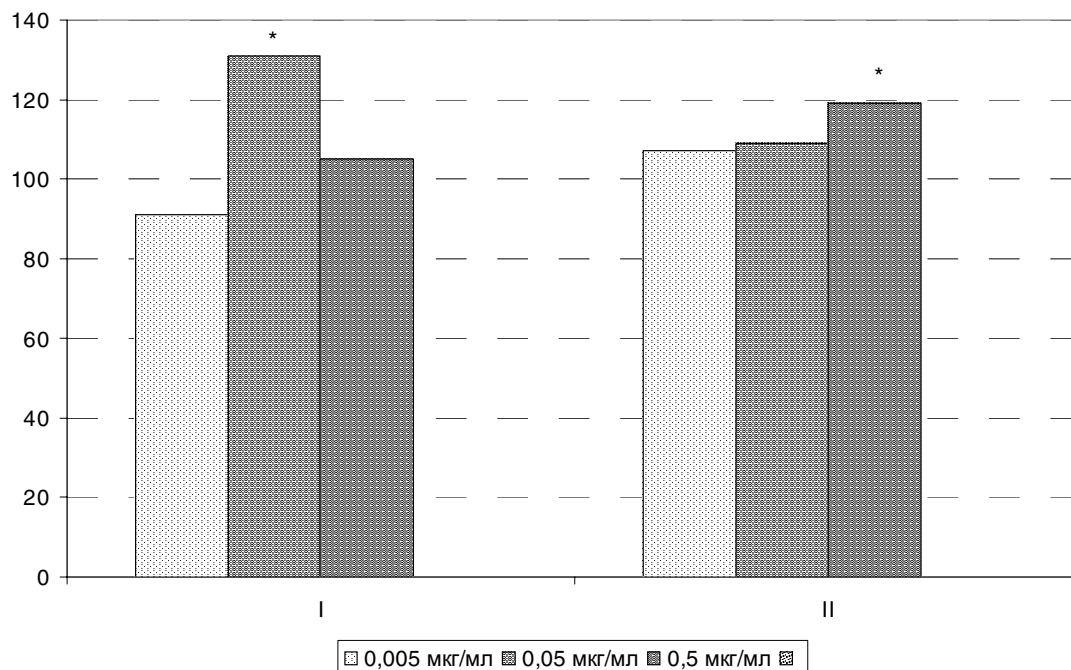


Рис. 1. Влияние пептида HLDF6 на уровень восстановления нитросинего тетразолиевого перитонеальными макрофагами после внесения препарата в среду на начальном (I) и заключительном (II) этапах культивирования. По оси ординат - уровень восстановления НСТ, % к контролю, * - различия с контролем достоверны, $p < 0,05$

но пролиферирующим клеткам HL-60, вызывало аналогичные изменения (уменьшение синтеза цАМФ и фосфорилирования белков клетки) [1]. Ингибирующий эффект HLDF6 на аденилатциклазную систему клетки проявлялся в присутствии негидролизуемого аналога ГТФ и отсутствовал при добавлении форсколина. Эти данные позволяют заключить, что пептид способен влиять на сопряжение аденилатциклазы с G-ингибиторным белком.

Однако подобная схема, даже в том случае, если она верна и в отношении макрофагов, может объяснить только потенцирующий эффект HLDF6. Способность пептида ослаблять эффект опиатных агонистов требует предположения о существовании других механизмов реализации эффекта.

Как было установлено ранее, HLDF6 вызывает модификацию физико-химических свойств клеточной мембраны, повышая ее текучесть [2]. Возможно, именно это свойство HLDF6 объясняет способность пептида усиливать адгезию макрофагов к пластиковой подложке при его внесении в среду на стадии «прилипания».

Следствием изменения характеристик клеточной мембраны может быть изменение структуры опиат-

ных рецепторов, что приводит к тому, что изменяется процесс их интернализации. Известно, что агонисты μ - и δ -рецепторов (etorphine, DAMGO, DSLET) вызывают быструю (в течение 10 минут) интернализацию опиатных рецепторов [14], тогда как под действием селективных κ -агонистов этот процесс протекает значительно медленнее (более 30 минут) [30]. Возможно, пептид HLDF6 ускоряет интернализацию рецепторов, что приводит к их быстрой десенситизации и, как результат, ингибированию активации макрофагов под действием опиатных пептидов. Причем, в случае μ - и δ -рецепторов, процесс интернализации которых сам по себе происходит достаточно быстро, HLDF6 может вызывать ускорение процесса даже в малых концентрациях, тогда как для отмены стимулирующего воздействия динорфина через κ -рецепторы требуются концентрации пептида, в 10 раз большие.

Другим возможным механизмом ингибирующего эффекта HLDF6 могут быть конформационные изменения структуры ионных каналов, в частности, кальциевых, которые подвержены регуляции опиатными пептидами [15]. В связи с этим, не исключено, что эффект HLDF6 на функциональное состояние макрофагов может быть обусловлен деблокиро-

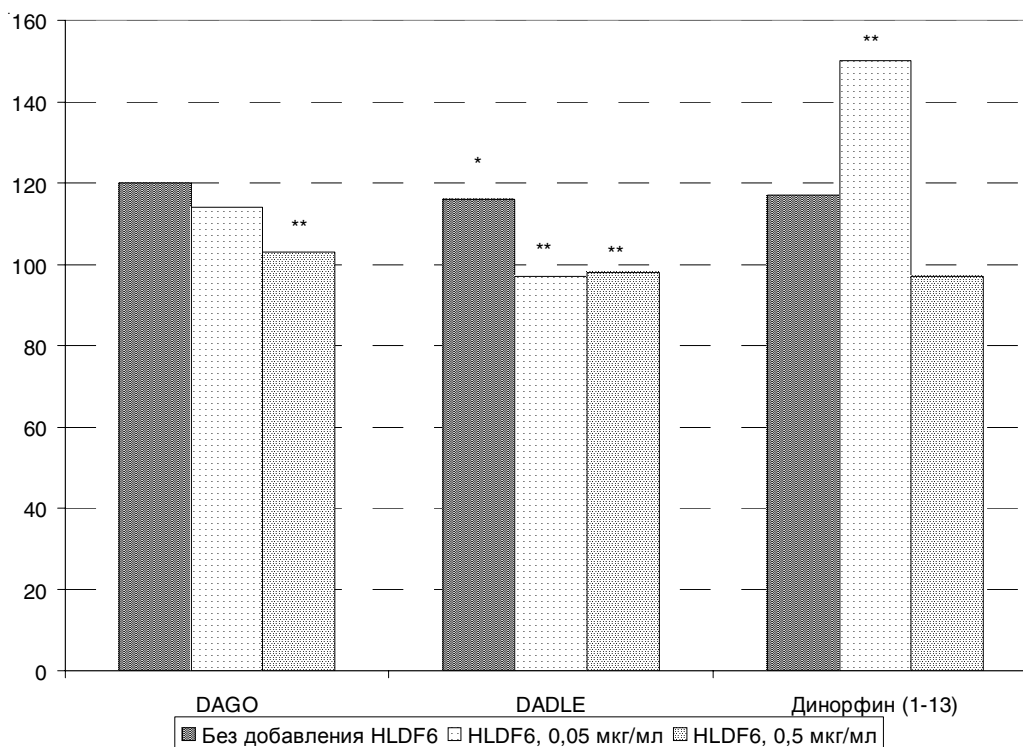


Рис.2. Изменение показателей НСТ-теста после культивирования макрофагов с опиатными агонистами (0,005 мкг/мл) и пептидом HLDF6 (0,05-0,5 мкг/мл) на стадии формирования клеточного монослоя. По оси ординат - уровень восстановления НСТ, % к контролю; * - различия с контролем достоверны, $p < 0,05$; ** - различия достоверны, по сравнению с показателями в лунках с добавлением агониста, $p < 0,05$

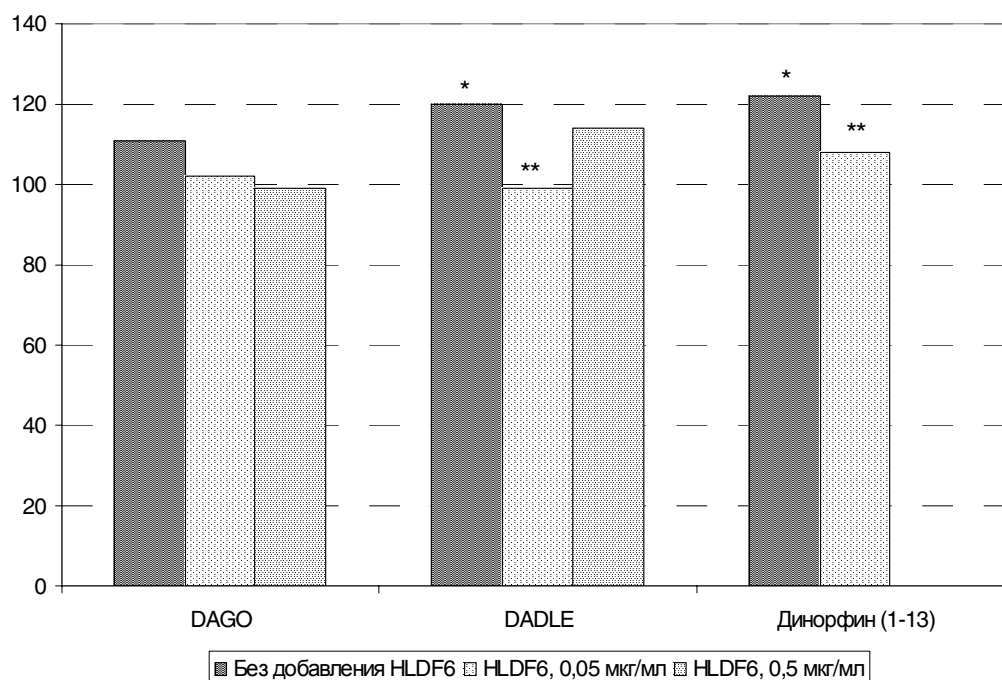


Рис.3. Изменение показателей НСТ-теста после культивирования макрофагов с опиатными агонистами (0,005 мкг/мл) и пептидом HLDF6 (0,05-0,5 мкг/мл) в момент инициации фагоцитоза. По оси ординат - уровень восстановления НСТ, % к контролю

*-различия с контролем достоверны, $p < 0,05$; **-различия достоверны, по сравнению с показателями в лунках с добавлением агониста, $p < 0,05$

ванием Ca^{2+} -каналов, вызванным опиатами, и активацией Ca^{2+} -кальмодулин-опосредованных путей передачи клеточного сигнала.

Очевидно, что выяснение внутриклеточных механизмов действия пептида HLDF6 требует дальнейшего изучения. В то же время факт ингибирования пептидом иммунных реакций, опосредованных опиатными рецепторами, может быть важен с точки зрения перспективы его применения в клинической практике для коррекции наркотической зависимости.

Выводы

1. Показано, что агонисты μ -, δ - и κ -опиатных рецепторов (DAGO, DADLE, динорфин (1-13)) обладают способностью усиливать адгезивные свойства и функциональную активность макрофагов при их прямом взаимодействии с клетками. Интенсивность стимуляции определялась типом агониста и, соответственно, опиатного рецептора.

2. Пептид HLDF6 повышает макрофагальную активность при добавлении в инкубационную среду как на начальном, так и конечном этапах культивирования.

3. Данные, касающиеся совместного использования HLDF6 и опиатных агонистов, свидетельствуют о взаимодействии пептида и эндогенной опиатной системы. Направление эффекта пептида зави-

село от типа опиатного агониста и функционального состояния макрофагов.

Список литературы

1. Жохов С.С., Костанян И.А., Гибанова Н.В., Сурина Е.А., Сторожева З.И., Бабиченко И.И., Липкин В.М. Сходство и различие действия пептидов TGENHR и TQVENR на промиелоциты линии HL-60 и клетки Пуркинью червя мозжечка крыс // Доклады академии наук. - 2004. - Т.394, N5. - С. 696-669.
2. Костанян И.А., Астапова М.В., Новолотская Е.В., Лепихова Т.Н., Драницына С.М., Телегин Г.В., Родионов И.Л., Байдакова Л.К., Золотарев Ю.А., Молотковская И.М., Липкин В.М. Биологически активный фрагмент фактора дифференцировки клеток линии HL-60. Идентификация и свойства // Биоорганическая хим. - 2000. - Т.26, № 7. - С.505-511.
3. Литвинова С.В., Костанян И.А., Аристов В.В., Колужный А.Л., Шульговский В.В., Теребилина Н.Н., Панченко Л.Ф. Использование пептида HLDF-6 для коррекции нарушений эндогенной опиатной системы потомков морфинзависимых животных // Бюл. эксп. биол. мед. - 2003. - Т.135, N2. - С.133-135.
4. Симбирцев А.С., Пигарева Н.В., Конусова В.Г. // Вестник Рос.Акад.мед.наук. - 1993. - №2. - С.18-22.

5. Bidlack J.M. Detection and function of opioid receptors on cells from the immune system // Clin. Diagnostic Lab. Immunol.- 2000.-Vol.7, N5.-P.719-723.
6. Casselas A.M., Guardiola H., Renaud F.L. Inhibition by opioids of phagocytosis in peritoneal macrophages // Neuroptides.- 1991.-Vol.18, N1.-P.35-40.
7. Foris G., Medgyesi G.A., Gyimesi E., Hauck M. Met-enkephalin induced alterations of macrophage functions // Mol. Immunol.-1984.-Vol.21,N8.-P.747-750.
8. Foris G., Medgyesi G.A., Nagy J.T., Varga Z. Concentration-dependent effect of met-enkephalin on human polymorphonuclear leukocytes // Ann. N. Y. Acad. Sci.-1987.-Vol.496.-P.151-157.
9. Gamaley S.G., Fedosova L.K., Danilenko E.D., Masycheva V.I., Kostanyan I.A. The study of the interaction of the HLDF6 peptide differentiation factor fragment with the opioid receptor system // Intern. interdisciplinary workshop "New technologies in medicine and ecology, integrative medicine", Vysokie Tatry, Slovakia, 13-25 January, 2003.-P.30-32.
10. Gottlieb P., Beretz A., Fridkin M. Tuftsin analogs for probing its specific receptor site on phagocytic cells // Eur. J. Biochem.- 1982.-Vol. 125.-P. 631-638.
11. Heagy W., Laurance M., Cohen E., Finberg R. Neurohormones regulate T cell function // J. Exp. Med.- 1990.-Vol.171, N5.-P.1625-1633.
12. House R.V., Thomas P.T., Bhargava H.N. A comparative study of immunomodulation produced by in vitro exposure to delta opioid receptor agonist peptides // Peptides.- 1996.-Vol.17, N1.-P.75-81.
13. Ichinose M., Assai M., Sawada M. Enhancement of phagocytosis by dynorphin A in mouse peritoneal macrophages // J. Neuroimmunol.- 1995.-Vol.60.-P.37-43.
14. Keith D.E., Anton B., Murray S.R., Zaki P.A., Chu P.C., Lissin D.V., Monteillet-Agius G., Stewart P.L., Evans C.J., Von Zastrow M. Mu-opioid receptor internalization: opiate drugs have differential effects on a conserved endocytic mechanism *in vitro* and in the mammalian brain // Mol. Pharmacol.-1998.-Vol. 53.-P.377-378.
15. Law P.-Y., Loh H.H. Regulation of opioid receptor activities // J. Pharmacol Exp. Ther.-1999.-Vol.289, N2.-P.607-624.
16. Lazaro M.I., Tomassini N., Gonzalez I., Renaud F.L. Reversibility of morphine effects on phagocytosis by murine macrophages // Drug Alcohol. Depend.- 2000.-Vol.8, N1-2.-P.159-164.
17. Magazine HI, Liu Y, Bilfinger TV, Fricchione GL, Stefano GB. Morphine-induced conformational changes in human monocytes, granulocytes, and endothelial cells and in invertebrate immunocytes and microglia are mediated by nitric oxide // J. Immunol.-1996.-Vol.156.-P.4845-4850.
18. Masycheva V.I., Fedosova L.K., Danilenko E.D., Kostanyan I.A., Samukov V.V. HLDF6 peptide correction of dynorphin amnesic effects // Intern. Narcotics Res. Conf. (34th, Perpignan, France, July 6-11, 2003): Programme&abstr.-N.P., 2003.-P.80.
19. Peterson P., Gekker G., Brummitt C., Pentel P., Bullock M., Simpson M., Hitt J., Sharp B. Suppression of human peripheral blood mononuclear cell function by methadone and morphine // J. Infect. Dis.- 1989.-Vol.159- P.480-487.
20. Petty H.R., Martin S.M. Combinative ligand-receptor interactions: effects of cAMP, epinephrine, and met-enkephalin on RAW264 macrophage morphology, spreading, adherence, and microfilaments // J. Cell Physiol.-1989.-Vol.138, N2.-P.247-256.
21. Rook G.A.W., Steel J., Umar S., Dockrell H.M. A simple method for the solubilisation of reduced NBT, and its use as a colorimetric assay for activation of human macrophages by gamma-interferon // J. Immunol. Meth. - 1985.- Vol.82, №1.- P.161-167.
22. Rouveix B. Opiates and immune function. Consequences on infectious diseases with special reference to AIDS // Therapie.-1992.-Vol.47,N6.-P.503-512.
23. Roy S., Loh H.H. Effects of opioids on the immune system // Neurochem. Res.-1996.-Vol.21.-P.1306-1375.
24. Sabirov A.N., Kim Y.-D., Kim H.-J., Samukov V.V. Fmoc- and Nsc-groups as a base labile N(a)-amino protection: a comparative study in the automated SPPS // Protein Pept. Lett.-1998.- Vol. 5, N 2.- P. 307-312.
25. Sowa G., Gekker G., Lipovsky M.M., Hu S., Chao C.C., Molitor T.W., Peterson P.K. Inhibition of swine microglial cell phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* by femtomolar concentrations of morphine // Biochem. Pharmacol.- 1998.-Vol.53.-P.823-828.
26. Stefano G.B., Scharrer B., Smith E.M., Hughes T.K. Jr., Magazine H.I., Bilfinger T.V., Hartman A.R., Fricchione GL., Liu Y., Makman M.H.. Opioid and opiate immunoregulatory processes // Crit. Rev. Immunol.- 1996.- Vol.16.- P.109-144.
27. Szabo I., Rojavin M., Bussiere J.L., Eisenstein T.K., Adler M.W., Rogers T.J. Suppression of peritoneal macrophage phagocytosis of *Candida albicans* by opioids // J. Pharmacol. Exp. Ther.-1993.-Vol.267, N2.-P.703-706.
28. Tomassini N., Renaud F., Roy S., Loh H.H. Morphine inhibits Fc-mediated phagocytosis through mu and delta opioid receptors // J. Neuroimmunol.-2004.-Vol.147.-P.131-133.
29. Tosk J.M., Grim J.R., Kinback K.M., Sale E.J., Bozzetti L.P., Will A.D. Modulation of chemiluminescence in a murine macrophage cell line by neuroendocrine hormones // Int. J. Immunopharmacol. - 1993.-Vol.15, N5.-P.615-620.

30. Trapaidze N., Keith D.E., Cvejic S., Evans C.J., Devi L.A. Sequestration of the delta opioid receptor. Role of the C terminus in agonist-mediated internalization // J. Biol. Chem.-1996.- Vol.271.- P.29279–29285.

31. Wang H., Lin J., Liu J. Regulation of anti-SRBC antibody production by opioids and their mechanisms // Chin. Med. Sci. J.- 1995.-Vol.10, N3.- P.125-130.

поступила в редакцию 01.08.2004

отправлена на доработку 07.12.2004

принята к печати 27.12.2004