

Н.Е. Костина, Л.Е. Панин, Л.Л. Лазаренко

ВЛИЯНИЕ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I И ОБОЛОЧЕЧНЫХ БЕЛКОВ ВИЧ-1 НА ПРОДУКЦИЮ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ IN VITRO ЛИМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

ГУ НИИ биохимии СО РАМН, Новосибирск

ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск

Проведены исследования конкурентных отношений между поверхностными белками ВИЧ-1 и аполипопротеином А-I на лимфоцитах крови человека. О функциональной активности этих клеток судили по синтезу иммуноглобулинов класса G, M, A in vitro. Показано усиление продукции иммуноглобулинов лимфоцитами под влиянием аполипопротеина А-I. Выявлены конкурентные взаимоотношения между апо А-I и env1-белками ВИЧ-1: env1 белки ингибируют продукцию иммуноглобулинов лимфоцитами, в то время как аполипопротеин А-I снимает ингибирующее действие env1.

Ключевые слова: апо А-I, env1, ВИЧ-1, лимфоциты

Наличие общих антигенных детерминант у поверхностных белков ВИЧ-1 и аполипопротеина А-I человека и их взаимодействие с CD4-рецептором, локализованным на поверхности Т-лимфоцитов, обусловлено их структурной гомологией [2, 6]. Конкурентные взаимоотношения между env белками ВИЧ-1 и апо А-I в отношении рецептора аполипопротеина А-I могут приводить к подавлению участия апо А-I в регуляции экспрессии генов [1]. На перевиваемых Т-лимфоцитах линии МТ4 были показаны конкурентные отношения между поверхностными белками ВИЧ-1 и аполипопротеином А-I человека. Показано, что апо А-I человека блокирует цитопатическое действие env1 как в отношении синтеза белка, так и синтеза ДНК Т-лимфоцитами [3]. Принимая во внимание то, что все иммуноглобулины — это белки, синтезируемые иммунокомпетентными клетками, можно было ожидать, что и в данном случае будут проявляться конкурентные взаимоотношения между апо А-I и env1-белками ВИЧ-1. В связи с этим были проведены эксперименты по влиянию поверхностных белков ВИЧ-1 и аполипопротеина А-I человека на функциональную активность иммунокомпетентных клеток периферической крови человека. Для этого использовали модель спонтанного синтеза иммуноглобулинов класса G, M, A в культуре клеток in vitro [4].

В качестве источника мононуклеарных клеток брали кровь пациентов с бронхиальной астмой в клиническом отделении РАМН. Известно, что бронхиальная астма — это аллергическое заболевание. Оно является результатом длительного воздействия на организм каких-либо антигенов.

В периферической крови таких пациентов наблюдается повышенное содержание антителообразующих клеток.

Методика

Выделение мононуклеарных клеток крови человека проводили по стандартной методике в стерильных условиях [5]. Кровь, объемом 5 мл, из пробирки наслаивали на фиккол-урографинный буфер с плотностью 1,082 г/см³ в стерильных условиях и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 40 мин при комнатной температуре. Отбирали пипеткой интерфазу — кольцо мононуклеарных клеток, расположенное между нижней и верхней жидкими фазами. Интерфазу переносили в пробирку с 5 мл среды RPMI-1640, встряхивали и снова центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 мин. Промывку мононуклеарных клеток проводили двукратно. Затем помещали мононуклеарные клетки в питательную среду RPMI-1640 с добавлением 10% фетальной сыворотки, 600 мкг/мл L-глутамин, 30 мкг/мл линкомицина и 80 мкг/мл гентамицина и определяли концентрацию клеток в камере Горяева. В эксперименте клетки рассевали на планшеты для культуральных работ, в лунку вносили по 200000-300000 клеток. Для этого готовили суспензию клеток, содержащую 1×10⁶ кл./мл, из которой отбирали 150-200 мкл на точку. К суспензии клеток экспериментальной группы добавляли апо А-I или env1 или одновременно оба этих белка. В контрольной группе в суспензию клеток вводили соответствующий объем буфера. В качестве отрицательного контроля использовали поверхностные белки ВИЧ-2 (env2). После культивирования в течение

2-3 суток при 37 °С в атмосфере CO₂ определяли концентрацию клеток в суспензии и их жизнеспособность. Методом ИФА на тест-системах анализировали концентрацию иммуноглобулинов класса G, M, A в среде культивирования.

Результаты

На модели мононуклеарных клеток крови пациентов с бронхиальной астмой мы проследили спонтанный синтез иммуноглобулинов класса G, M, A в культуре *in vitro*. Характеристики пациентов, больных бронхиальной астмой, кровь которых использовали для выделения мононуклеарных клеток, представлены в *таблице 1*. Из таблицы видно, что у пациентов не наблюдали анемии и иммунопатологии.

Результаты экспериментов, полученные на модели мононуклеарных клеток крови пациентов с бронхиальной астмой, представлены в *таблице 2*. При введении в культуральную среду env1 (группа 3) происходило ингибирование продукции иммуноглобулинов классов G и A. Снижение

продукции антител под влиянием env1, по-видимому, связано с подавлением экспрессии гена иммуноглобулинов. В то же время достоверного влияния env1 на продукцию IgM не наблюдается. Это можно объяснить тем, что продукция IgM проявляется как первичный эффект, а пациенты с какой-то выявленной патологией, в данном случае — бронхиальной астмой, имеют вторичный ответ. Следовательно, проявления эффекта на продукцию IgM может не быть.

Введение двух белков (env1 и аполипопротеина А-I) выявило конкурентные взаимоотношения между ними: индуцирующий со стороны апо А-I и ингибирующий со стороны env1. Видимо, поэтому для группы 4 не наблюдалось отличий по сравнению с контрольной группой. При добавлении env2 достоверных отличий в продукции иммуноглобулинов не наблюдали.

Выводы

1. Поверхностные белки ВИЧ-1 обладают цитопатическим действием, проявляющимся в по-

Таблица 1

Характеристики крови пациентов, страдающих бронхиальной астмой

№ пациента	Гемоглобин г/л	Эритроциты 10 ¹² /л	Субпопуляции лимфоцитов, %					IgM, г/л	IgA, г/л	IgG, г/л
			CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD72 ⁺	CD16 ⁺			
1	127	4,2	75	50	22	12	10	0,96	2,00	11,04
2	156	4,7	78	54	31	15	12	1,72	2,00	11,9
3	144	4,3	67	41	29	16	18	0,93	2,56	11,4
4	128	4,4	70	52	21	10	14	2,67	1,34	11,7
5	135	4,1	75	48	23	11	13	1,54	1,90	12,3
6	155	5,0	67	46	24	15	11	0,97	1,42	10,4
7	154	4,7	68	53	25	12	13	2,19	1,68	10,5
8	136	4,5	80	55	27	14	14	1,58	1,37	9,87

Таблица 2

Влияние апоА-I и env1 на продукцию антител лимфоцитами крови человека (n=8)

№ группы	Концентрация агента, мкг/мл		IgG, нг/мл M±m	IgM, нг/мл M±m	IgA, нг/мл M±m
	апоА-I	env1			
1	0	0	125,7±17,5	84,5±13,1	97,7±14,5
2	5	0	256,6±37,6	150,8±21,4	150,6±22,9
3	0	2	105,6±13,1	114,7±22,3	76,9±18,3
4	5	2	132,5±17,9	92,6±9,2	102±13,5
5 (env2)	0	0	132,9±21,7	110,7±15,2	109,4±16,2
Достоверность отличий между группами			гp1-2 p≤0,003 гp2-3 p≤0,001 гp1-3 p≤0,005	гp2-3 p≤0,05	гp1-2 p≤0,05 гp2-3 p≤0,05 гp1-3 p≤0,05

давлении спонтанной продукции иммуноглобулинов *in vitro* лимфоцитами крови человека.

2. Аполипопротеин А-I человека блокирует цитопатическое действие env1 на продукцию иммуноглобулинов *in vitro* лимфоцитами крови человека.

Результаты, полученные на модели мононуклеарных клеток крови человека, доказывают наличие конкурентных взаимоотношений между поверхностными белками ВИЧ-1 и аполипопротеином А-I.

The effect of apolipoproteins A-I and envelope proteins of HIV-1 on *in vitro* production of immunoglobulines by human peripheral blood lymphocytes

N.E. Kostina, L.E. Panin, L.L. Lazarenko

The competitive relations between envelope proteins of HIV-1 and apolipoprotein A-I were studied on human blood lymphocytes. The functional activity of these cells was determined by *in vitro* synthesis of immunoglobulins of G, M and A classes. Production of immunoglobulins by lymphocytes was shown to enhance under the influence of apolipoprotein A-I. The competitive relations between apo A-I and env1-envelope proteins of HIV-1 were revealed that is, the env1 proteins inhibited the production of immunoglobulins by lymphocytes, whereas apolipoprotein A-I cancelled the inhibitory effect of env1.

Литература

1. Влияние комплекса тетрагидрокортизол-аполипопротеин А-I на взаимодействие РНК-полимеразы с эукариотической ДНК и на скорость биосинтеза белка в гепатоцитах / Л.Е. Панин, Ф.В. Тузиков, Н.А. Тузикова и др. // Биоорганич. химия. — 2001. — Т. 27. — № 2. — С. 114-119.

2. Оценка функциональной роли структурной гомологии поверхностных белков ВИЧ-1 и аполипопротеина А-I человека при взаимодействии их с лимфоцитами / Л.Е. Панин, Н.Е. Костина, В.С. Кожевников и др. // Иммунология. — 2002. — Т. 23. — № 5. — С. 260-262.

3. Панин Л.Е. Взаимное влияние оболочечных белков ВИЧ-1 и аполипопротеина А-I на синтез белка и ДНК Т-лимфоцитами человека / Л.Е. Панин, Н.Е. Костина, Т.Р. Проняева // Иммунология. — 2003. — Т. 24. — № 4. — С. 203-204.

4. Продукция иммуноглобулинов *in vitro* лимфоцитами периферической крови и влияние на нее иммуномодуляторов у больных с дефицитом антителообразования / Б.В. Пинегин, С.М. Инжеваткина, А.В. Кулаков и др. // Иммунология. — 1991. — № 1. — С. 50-52.

5. Стандартизация методов иммунофенотипирования клеток крови и костного мозга человека / А.А. Тотьлян, И.А. Балдуева Л.Н., Бубнова и др. // Медицинская иммунология. — 1999. — Т. 1. — № 5. — С. 21-43.

6. Структурное и иммунохимическое соответствие оболочечных белков ВИЧ-1 и аполипопротеина А-I / Л.Е. Панин, Н.Е. Костина, О.Н. Потеряева, В.А. Лукашев // ДАН. — 2001. — Т. 377. — № 2. — С. 266-269.