

ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО β 1-ГЛИКОПРОТЕИНА НА ХЕМОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ И МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК

© 2019 г. С. А. Заморина^{1*}, Л. С. Литвинова², К. А. Юрова²,
О. Г. Хазиахматова², В. П. Тимганова¹, М. С. Бочкова¹,
П. В. Храмцов^{1,2}, М. Б. Раев¹

*E-mail: mantissa7@mail.ru

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал
ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия;

²Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

Поступила: 07.03.2019. Принята: 20.03.2019

Изучали влияние трофобластического β 1-гликопротеина человека (ТБГ) на продукцию хемокинов мононуклеарными клетками и Т-хелперами в условиях *in vitro* методом проточной флуориметрии. Установлено, что ТБГ подавляет продукцию хемокинов, повышенный уровень которых ассоциирован с самопроизвольным прерыванием беременности: IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и MCP-1. В итоге, можно сделать вывод, что ТБГ формирует фетопротективный хемокиновый профиль исследованных периферических клеток иммунной системы.

Ключевые слова: трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ), беременность, хемокины, лимфоциты, моноциты, CD4⁺- лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006593-7

Адрес: 614081 Пермь, ул. Голева, д. 13, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, лаборатория экологической иммунологии. Заморина Светлана Анатольевна. Телефон: +7 (342) 280-77-94,
E-mail: mantissa7@mail.ru

Авторы:

Заморина С. А., д.б.н., в.н.с., «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

Литвинова Л. С., д.м.н., заведующая Базовой лабораторией иммунологии и клеточных биотехнологий «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

Юрова К. А., к.м.н., научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

Хазиахматова О. Г., к.б.н., научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия;

Бочкова М. С., к.б.н., н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь, Россия;

Тимганова В. П., к.б.н., м.н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь Россия;

Храмцов П. В., к.б.н., н.с. «ИЭГМ УрО РАН», Пермь, Россия; научный сотрудник «БФУ имени И. Канта», Калининград, Россия.

Раев М. Б., д.б.н., в.н.с. «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермь Россия.

С позиции современного понимания процессов репродукции, беременность является

физиологическим состоянием толерантности иммунной системы матери к полуаллогенному эмбриону. Цитокиновая сеть, включающая в себя и хемокины, непосредственно участвует в формировании иммунологической толерантности, выполняя функцию межклеточной коммуникации и выполняя интегративную роль в период беременности [1]. Трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ) – фетоплацентарный белок, синтезирующийся во время беременности клетками цито- и синцитиотрофобласта. Роль ТБГ в регуляции продукции хемокинов на уровне клеток человека изучена недостаточно. Прежде всего, это связано с отсутствием в открытом доступе нативного (не рекомбинантного) препарата ТБГ человека. В лаборатории экологической иммунологии («ИЭГМ УрО РАН», г. Пермь) разработана и запатентована авторская технология выделения и очистки ТБГ [2].

Целью работы являлась оценка роли ТБГ в регуляции продукции ключевых хемокинов, регулирующих клеточную интеграцию – CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL11/Eotaxin, CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α и CCL4/

MIP-1 β мононуклеарными клетками и CD4⁺-лимфоцитами человека в системе *in vitro*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали периферическую кровь небеременных женщин репродуктивного возраста (n=8). В эксперименте использовали суспензию мононуклеарных клеток, которые получали центрифугированием в градиенте плотности фикола-урографина. Затем методом позитивной иммуномагнитной сепарации («Invitrogen», США) из суспензии мононуклеарных клеток изолировали CD4⁺-лимфоциты. Полученные клетки – мононуклеары (1×10⁷ кл/проба) и CD4⁺-лимфоциты (1×10⁶ кл/проба) инкубировали с ТБГ (1, 10 и 100 мкг/мл) в плоскодонном 24-луночном планшете в ППС в течение 18 ч при 37 °С и 5% CO₂ без дополнительных индукторов. После инкубации методом проточной флуориметрии («Luminex xMAP») в инкубационной среде определяли содержание ключевых хемокинов: CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CCL11/Eotaxin, CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β . Процедуры осуществляли согласно протоколу «Bio-Plex Pro™ 27-Plex Assay». Результаты регистрировали с помощью автоматического фотометра для микропланшет Bio-Plex (Bio-Plex® 200 Systems, «Bio-Rad», США) и программы Bio-Plex Manager («Bio-Rad») в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Статистическую обработку результатов проводили с использованием парного критерия t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при внесении в культуру интактных мононуклеарных клеток ТБГ подавлял продукцию провоспалительного цитокина CXCL8/IL-8, и хемокинов CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL2/MCP-1. Эффекты, оказываемые ТБГ на продукцию хемокинов, зависели от его концентрации – так, продукция CXCL8/IL-8 угнеталась низкой и высокой концентрациями ТБГ (1 и 100 мкг/мл), CCL2/MCP-1 и CCL4/MIP-1 β высокой концентрацией ТБГ (100 мкг), а продукция CCL3/MIP-1 α – только низкой концентрацией (1 мкг/мл). Не выявлено эффектов ТБГ на продукцию CXCL8/IP-10,

CCL11/Eotaxin и CCL5/RANTES мононуклеарными клетками. Установлено, что при внесении в культуру изолированных CD4⁺-клеток (Т-хелперов), ТБГ также снижал продукцию провоспалительного цитокина CXCL8/IL-8. В отношении синтеза хемокинов установлено, что ТБГ подавлял продукцию CCL3/MIP-1 α , CCL4/MIP-1 β , CCL5/RANTES (100 и 10 мкг/мл) и CCL2/MCP-1 в низкой концентрации. Не выявлено эффектов ТБГ на продукцию CXCL8/IP-10 и CCL11/Eotaxin Т-хелперами. Известно, что IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и MCP-1 реализуют транзит клеток в норме и миграцию клеток при воспалении, а повышение их уровня во время беременности ассоциировано с развитием самопроизвольных аборт [1]. Тот факт, что ТБГ способен угнетать их продукцию клетками иммунной системы, свидетельствует о фетопротективном потенциале этого белка.

Таким образом, ТБГ оказывал преимущественно супрессивный эффект на продукцию исследуемых хемокинов, причем эффект высокой концентрации белка носил универсальный характер. С учетом того факта, что повышение уровней IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES и MCP-1 во время беременности ассоциировано с развитием самопроизвольных аборт, способность ТБГ снижать их продукцию клетками иммунной системы можно трактовать как вклад данного белка в формирование иммунологической толерантности при беременности.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353248 и программы повышения конкурентоспособности (5-100) и субсидии «Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/ВУ» БФУ им. И. Канта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Du M.-R., Wang S.C., Li D.J. The integrative roles of chemokines at the maternal-fetal interface in early pregnancy // Cell. Mol. Immunol. 2014; 11(5): P. 438–448.
2. Раев М. Б. Способ выделения и очистки трофобластического β -1-гликопротеина. Патент РФ № 2367449 от 20.09.2009. / «Изобретения. Полезные модели». – 2009. – № 26. [Rayev M. B. A Method for the Isolation and Purification of Trophoblastic B-1-Glycoprotein. Patent of the Russian Federation 2367449, published on 2006, September 20, Bul. 26.]

**EFFECT OF PREGNANCY-SPECIFIC β 1-GLYCOPROTEIN
ON CHEMOKINE PROFILE OF CULTURED T-HELPER
AND MONONUCLEAR CELLS**

© 2019 S. A. Zamorina¹, L. S. Litvinova², K. A. Yurova²,
O. G. Khaziakhmatova², V. P. Timganova¹, M. S. Bochkova¹,
P. V. Khrantsov^{1,2}, M. B. Rayev¹

*E-mail: mantissa7@mail.ru

¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS, Perm, Russia;

²Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Received: 07.03.2019. **Accepted:** 20.03.2019

The effect of human pregnancy-specific β 1-glycoprotein (PSG) on the production of chemokines by intact mononuclear cells and monocultures of CD4⁺ cells in vitro by Bio-Plex® multiplex immunoassay technology was studied. It has been established that PSG suppresses the production of IL-8, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES and MCP-1, chemokines, an elevated level of which is associated with spontaneous abortion. As a result, it can be concluded that PSG forms the fetoprotective chemokine profile of the studied immune cells.

Key words: trophoblastic β 1-glycoprotein (PSG), pregnancy, chemokines, lymphocytes, monocytes, CD4⁺- lymphocytes

Authors:

Zamorina S. A., ✉ PhD, MD (Biology), leading researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russian Federation. **E-mail:** mantissa7@mail.ru;

Litvinova L. S., PhD, MD (Medicine), Head, Basic Laboratory of Immunology and Cell Biotechnologies, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

Yurova K. A., PhD (Medicine), Researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

Khaziakhmatova O. G., PhD (Biology), Researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

Timganova V. P., PhD, junior researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia;

Bochkova M. S., PhD, researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia;

Khrantsov P. V., PhD, researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russian Federation, researcher, Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia;

Rayev M. B., PhD, MD, Leading Researcher, «Institute of ecology and genetics of microorganisms UB RAS», Perm, Russia.