

ГЛУТАМАТ-ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ VLA-4 ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

© 2019 г. У. Ш. Кузьмина¹, К. З. Бахтиярова², Ю. В. Вахитова^{1*}

*E-mail: juvv73@gmail.com

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение
ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия;

²ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет
Минздрава РФ, Уфа, Россия

Поступила: 01.03.2019. Принята: 14.03.2019

Проведено исследование влияния блокады AMPA и NMDA рецепторов глутамата на поверхностную экспрессию интегрина VLA-4 в интактных и антиген-активированных субпопуляциях CD69⁺CD25⁻, CD69⁻CD25⁺ и CD69⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, полученных от здоровых лиц и больных рассеянным склерозом (РС). Оценку уровня поверхностной экспрессии интегрина проводили с помощью проточной цитометрии методом иммунофлуоресцентного окрашивания. Согласно полученным данным, блокада NMDA рецепторов не сопровождается изменением поверхностной экспрессии VLA-4 во всех экспериментальных группах. В тоже время выявлены отличия в последствиях блокады AMPA рецепторов у больных РС по сравнению с группой здоровых лиц: на фоне NBQX у здоровых лиц наблюдается увеличение поверхностной экспрессии интегрина VLA-4 на клетках с фенотипом CD69⁻CD25⁺, в то время как у пациентов с РС выявлено снижение исследуемого показателя в CD69⁺CD25⁻ клетках. Таким образом, рецепторы глутамата вовлечены в регуляцию экспрессии VLA-4, локализованных на Т-лимфоцитах, что раскрывает возможные механизмы, посредством которых реализуются иммуномодулирующие функции глутамата при РС.

Ключевые слова: NMDA рецепторы, AMPA рецепторы, Т-лимфоциты, VLA-4, рассеянный склероз

DOI: 10.31857/S102872210006627-4

Адрес: 450054, Уфа, пр. Октября, д. 71, Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, лаборатория молекулярной фармакологии и иммунологии, Вахитова Юлия Венеровна. Тел./факс: +7(347)2–35–60–88.

E-mail: juvv73@gmail.com

Авторы:

Кузьмина У. Ш., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии, Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия;

Бахтиярова К. З., д.б.н., профессор кафедры неврологии с курсами нейрохирургии и медицинской генетики ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа, Россия;

Вахитова Ю. В., д.б.н., чл.-корр. РАН, зав. лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии, Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Ключевым событием в патогенезе рассеянного склероза, прогрессирующего аутоиммунного и нейродегенеративного заболевания центральной нервной системы, считается миграция периферических аутореактивных миелин-специфических Т-клеток через гематоэнцефалический барьер в мозг [1]. Известно, что трансэндотелиальной миграции лимфоцитов осуществляется путем взаимодействия иммунных и эндотелиальных клеток посредством синтеза различных молекул, в частности интегринов. Кроме того, отмечена немаловажная роль статуса активации клеток в этом процессе, которая приобретает особую значимость, учитывая иммунопатогенез РС [2]. На сегодняшний день доказано наличие действующих рецепторов глутамата на Т-лимфоцитах и их вовлеченность в регуляцию различ-

ных базовых процессов, в том числе миграция иммунных клеток [1]. Тем не менее, открытым остается вопрос о роли глутамата и его рецепторов в механизмах трансэндотелиальной миграции Т-лимфоцитов. В связи с этим, настоящее исследование посвящено изучению функциональной значимости ионотропных рецепторов глутамата NMDA и AMPA в регуляции поверхностной экспрессии интегрин VLA-4 при РС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовали 15 здоровых индивидумов и 16 больных с ремиттирующим рассеянным склерозом в стадии обострения. Мононуклеары из периферической венозной крови доноров выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколла. Клетки (1×10^5 клеток/образец) инкубировали 24 часа с моноклональными антителами (МКА) к CD3 молекуле совместно с антагонистом NMDA рецепторов (+)MK801 (100 мкМ) или AMPA рецепторов NBQX (100 мкМ). Оценку уровня поверхностной экспрессии молекул адгезии проводили методом непрямого иммунофлуоресцентного окрашивания с помощью первичных МКА к интегрину VLA-4 и вторичных антител, конъюгированных с Alexa Fluor® 488. Иммунофенотипирование клеток осуществляли с использованием МКА CD69-PE и CD25-PE/Cy5. Интенсивность флуоресценции детектировали с помощью проточного цитофлуориметра «Novocyte 2060» с последующим анализом данных в программе NovoExpress® v.1.2.5. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью непараметрических методов анализа: U-критерий Манна-Уитни и t-критерий Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, действие антагонистов NBQX и (+)MK801 не оказывает влияния на уровень VLA-4 на нестимулированных Т-лимфоцитах как здоровых лиц, так и больных РС. Блокада NMDA и AMPA рецепторов на фоне антигенной активации Т-лимфоцитов у здоровых лиц вызывает, в целом, снижение исследуемого показателя, однако обращает на себя внимание повышение на фоне инкубации с NBQX экспрессии VLA-4 в субпопуляции CD69⁻CD25⁺ клеток по сравнению с соответствующим контролем. При инкубации aCD3-активированных клеток больных РС доноров с (+)MK801 или NBQX наблюдается тенденция к снижению уровня VLA-4 в CD69⁺CD25⁻ и CD69⁺CD25⁺ субпопуляциях. Блокада AMPA рецепторов достоверно снижает представленность молекулы адгезии на поверхности CD69⁺CD25⁻ клеток. В совокупности полученные данные свидетельствуют о вовлеченности рецепторов глутамата в регуляцию экспрессии молекул адгезии на Т-клетках и вносят вклад в понимание важного с точки зрения патогенеза заболевания процесса, связанного с регуляцией эндогенными факторами функций иммунных клеток и их межклеточных взаимодействий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Levite M.* Glutamate, T cells and multiple sclerosis. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017, 124, 775–798.
2. *González-Amaro R., Cortés J. R., Sánchez-Madrid F, Martín P.* Is CD69 an effective brake to control inflammatory diseases? *Trends Mol Med*. 2013, 19(10), 625–632.

GLUTAMAT-MEDIATED MECHANISMS OF REGULATION OF VLA-4 EXPRESSION IN MULTIPLE SCLEROSIS

© 2019 U. Sh. Kuzmina¹, K. Z. Bakhtiyarova², Yu. V. Vakhitova^{1*}

*E-mail: juvv73@gmail.com

¹IBG UFRC RAS, Ufa, Russia;

²FSBEI HE BSMU MOH Russia, Ufa, Russia

Received: 01.03.2019. Accepted: 14.03.2019

The effect of blockade of AMPA and NMDA glutamate receptors on the surface expression of integrin VLA-4 in intact and antigen-activated CD69⁺CD25⁻, CD69⁻CD25⁺ and CD69⁺CD25⁺ subpopulations of T-lymphocytes obtained from healthy individuals and patients with multiple sclerosis (MS) was studied. The assessment of the level of surface expression of integrin was performed using flow cytometry using immunofluorescent staining. According to obtained data, blockade of NMDA receptors is not accompanied by a change in the surface expression of VLA-4 in all experimental groups. At the same time, differences in the consequences of the blockade of AMPA receptors in patients with MS compared with the group of healthy individuals were revealed: against the background of NBQX in healthy individuals, an increase in surface expression of VLA-4 was observed on cells with the CD69⁻CD25⁺ phenotype, while in patients with MS a decrease in the studied parameter was found in CD69⁺CD25⁻ cells. Thus, glutamate receptors are involved in the regulation of the expression of VLA-4 localized on T-lymphocytes, which reveals the possible mechanisms by which the immunomodulating functions of glutamate are realized in MS.

Key words: NMDA receptors, AMPA receptors, T-lymphocytes, VLA-4, multiple sclerosis

Authors:

Kuzmina U. Sh., PhD, Research scientist of molecular pharmacology and immunology, IBG UFRC RAS, Ufa, Russia;

Bakhtiyarova K. Z., Dr. Sci. Biol., Professor of the Department of Neurology with courses of neurosurgery and medical genetics, FSBEI HE BSMU MOH, Ufa, Russia; Head of the republican center of Multiple Sclerosis, Ufa, Russia;

Vakhitova Yu. V., ✉ Dr. Sci. Biol., corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of molecular pharmacology and immunology IBG UFRC RAS, Ufa, Russia. E-mail: juvv73@gmail.com