

Некоторые из представленных в табл. 2 HLA-гаплотипов характерны как для монголоидов, так и для европеоидов. К ним относятся DR2—DQ1, B13—DR7 и B15—Cw3. Остальные HLA-гаплотипы, указанные в табл. 2, видимо, специфичны для обследованной популяции, так как нехарактерны ни для европеоидных, ни для монголоидных популяций по среднемировым данным [4].

Таким образом, в результате исследования частот HLA-антигенов, генов, гаплотипов и параметров гаметной ассоциации аллелей установлены характеристики HLA-генетического профиля представителей бурятской популяции, проживающих в Тункинской долине (с. Кырен) на западе Бурятии. Полученные данные свидетельствуют не только о преобладающем сходстве HLA-генетического профиля обследованной популяции с другими монголоидными популяциями по среднемировым данным, но и о наличии в ней европеоидных черт, а также, что особенно важно, о значительных индивидуальных особенностях популяции. Своеобразие HLA-генетических черт бурятской популяции согласуется с упомянутыми выше данными о сложностях этногенеза бурят, а также свидетельствует о чрезвычайно высокой генетической гетерогенности популяций, относящихся к монголоидной расе. Высокая HLA-генетическая индивидуальность обследованной популяции позволяет ожидать специфических для нее особенностей HLA-маркеров заболеваний, а также своеобразия ассоциаций HLA-антигенов с параметрами иммунного статуса здоровых лиц.

#### Выводы

1. Установлен HLA-генетический профиль бурятской популяции Прибайкалья (с. Кырен) по широкому спектру HLA-аллелей локусов A, B, C, DR и DQ.

2. По характеру распределения HLA-антигенов, генов, гаплотипов и параметров неравновесного сцепления аллелей обследованная бурятская популяция имеет преобладающее сходство с монголоидами, а также европеоидные черты и выраженные индивидуальные особенности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Браунли К. А. Статистическая теория и методология в науке и технике. — М., 1977.
2. Брук С. И. Население мира: Этнодемографический справочник. — М., 1986.
3. Alexeev L. P., Petranji G. // HLA 1991/Eds K. Tsuji et al. — Oxford, 1992. — Vol. 1. — P. 666—673.
4. Baur M. P., Neugebauer M., Albert E. D. // Histocompatibility Testing 1984/Eds E. D. Albert et al. — Berlin, 1984. — P. 677—755.
5. Baur M. P., Neugebauer M., Deppe H. et al. // Ibid. — P. 333—341.
6. Ivanyi P., Egorov L. K., Fellar L. et al. // Tiss. Antigens. — 1976. — Vol. 8. — P. 239—246.
7. Mattiuz P. L., Ihde D., Piazza A. et al. // Histocompatibility Testing 1970. — Copenhagen, 1970. — P. 193—205.
8. Terasaki P. I., Bernoco D., Park M. S. et al. // Amer. J. clin. Path. — 1978. — Vol. 69. — P. 103—120.
9. Tokunaga K., Sideltseva E. W., Tanaka H. et al. // Tiss. Antigens. — 1995. — Vol. 45. — P. 98—102.

Поступила 25.09.97

#### IMMUNOGENETIC PROFILE OF THE BURYAT POPULATION OF THE BAIKAL REGION — V. V. Yazdovsky, E. V. Sideltseva, V. V. Sideltsev, L. P. Alekseev

**Summary.** The HLA-genetic profile was studied in 72 representatives of the Western Buryat population living in the Tunkin valley near the lake Baikal. Distribution of class I and II HLA-antigens in this population exhibited both Mongolian (dominant) and European features. Most frequent were the following HLA-haplotypes: DR2-DQ1 (16.4%), A2-B40 (13.4%), Cw6-DQ1 (11.0%), B40-Cw3 (9.1%), A9-Cw2 (8.4%), A9-B7 (6.21%), B5-Cw1 (5.8%). High HLA-genetic individuality of the population suggests the existence of specific for this population HLA-markers of diseases and markers of immune status.

## КЛЕТочная ИММУНОЛОГИЯ

© Л. Э. ВЕСНИНА, И. П. КАЙДАШЕВ, 1998

УДК 612.112.94.015.22.084

Л. Э. Веснина, И. П. Кайдашев

### УЧАСТИЕ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ПОЧЕК В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ НЕКОТОРЫХ РЕЦЕПТОРОВ ЛЕЙКОЦИТОВ

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

Большое количество исследований не оставляют сомнений в существовании особого класса биологически активных молекул — регуляторных пептидов (РП). Возникшие в процессе эволюции как первые координаторы жизнедеятельности, имеющие многостороннюю гибкость и легко синтезирующиеся [19], пептиды стали носителями и передатчиками межклеточной информации [1, 2]. В частности, выделенные из различных органов в виде совокупного клеточного пула, пептиды осу-

ществляют перенос специфической информации, необходимой для нормального функционирования, развития и взаимодействия клеточных популяций [8]. РП относятся к медиаторному звену системы биорегуляции и принимают участие в механизме межгенных взаимодействий на уровне популяций специализированных клеток [7, 9].

РП оказывают выраженное иммуномодулирующее, регенераторное воздействие, многие из них органоспецифичны. РП, выделенные из иммунокомпетентных клеток, оказывают выраженное воздействие на пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов, усиливают экспрессию и плотность рецепторов [8].

Некоторые пептидные комплексы могут восстанавливать состояние природной иммунологической толерантности [18, 20], влиять на активность иммуноцитов, моделировать соотношения Т-хелперов/индукторов (CD4<sup>+</sup>) и Т-супрессоров/киллеров (CD8<sup>+</sup>) [3].

При исследовании других органоспецифичных пептидов, выделенных из коркового вещества почек, обнаружено восстановление природной иммунологической толерантности лабораторных рецепторов к смеси тканевых антигенов и сделано предположение о вероятном участии РП в процессе взаимодействия Т-клеточного рецептора с его лигандами [5].

Обратная связь между системой иммунитета и пептидергической системой регуляции может осуществляться через тимус, бурсу Фабрициуса и благодаря наличию циркулирующих аутоантител к периферическим пептидам [4].

Приведенные факты, безусловно, свидетельствуют о существовании связи между комплексами тканевых пептидов и деятельностью системы иммунитета. Однако неизвестно, какие факторы влияют на формирование комплекса пептид—иммуноцит и какие мембранные структуры осуществляют рецепцию.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния пептидного комплекса коркового вещества почек на экспрессию рецепторов лимфоцитов.

**Методика исследования.** В исследованиях использовали кровь здоровых доноров, стабилизированную гепарином (25 ЕД/мл). Инкубацию с пептидным комплексом, полученным из коркового вещества почек по оригинальной методике [11], проводили в течение 60 мин при температуре 37°C. Дозы пептида использовали из расчета 0,05, 0,12 и 0,5 мкг на 1 мл. В качестве контроля использовали физиологический раствор в соответствующем объеме.

Супензию лимфоцитов периферической крови выделяли по стандартной методике в градиенте плотности фиколла-триомбраса с последующим отмыванием в фосфатно-солевом буфере ("Dullbesso A") при pH 7,2 [14]. Количество клеток в супензии при подсчете в камере Горяева в среднем составляло  $(1-1,5) \cdot 10^6$  в 1 мл [6].

При использовании реакции непрямого иммунофлюоресценции с помощью моноклональных антител (МКАТ) ICO 86 (анти-CD4) против Т-хелперов/индукторов, ICO 31 (анти-CD8) против Т-супрессоров /цитотоксических клеток, ICO 90 (анти-CD3) против зрелых Т-клеток, ICO 91 (анти-CD22) против В-лимфоцитов, ICO 1 (анти-HLA-DR) против активных Т-клеток, В-лимфоцитов, моноцитов определяли соответствующие фракции лимфоцитов. В качестве вторых антител использовали антитела, меченные ФИТЦ, против F(ab')<sub>2</sub>-фрагментов.

Регистрацию зеленой флюоресценции ФИТЦ проводили с помощью микроскопа "Люмам Р-8". Результаты оценивали по яркости флюоресценции: собственную флюоресценцию клеток считали отрицательной реакцией (-); выраженную флюоресценцию — положительной реакцией (+, ++, ++++) [10]. По характеру флюоресценции выделяли диффузный тип, когда равномерно светилась вся клетка; диффузную флюоресценцию мембраны; группировку рецепторов в виде отдельных кластеров, кэпов и пэтчей; полулунное расположение. Флюоресцентная микроскопия мембранных маркеров сопровождалась морфологическим контролем клеток в проходящем свете.

**Результаты и обсуждение.** Как показали полученные результаты, для нормальных клеток была характерна диффузная мембранная флюоресценция для всех исследованных маркеров (рис. 1).

Использование МКАТ против CD3 показало значительное увеличение количества клеток с флюоресценцией с 66% в контрольной группе до 74% с пептидом в дозе 0,05 мкг/мл и до 82% при его дозе 0,5 мкг/мл; соответственно средний цитохимический коэффициент (СЦК) повышался с 1,17 в контроле до 1,24 и 1,69. Характер флюоресценции также изменялся: увеличился процент диффузной флюоресценции с 12 в контроле до 26 и 33 (при дозах пептида соответственно 0,05 и

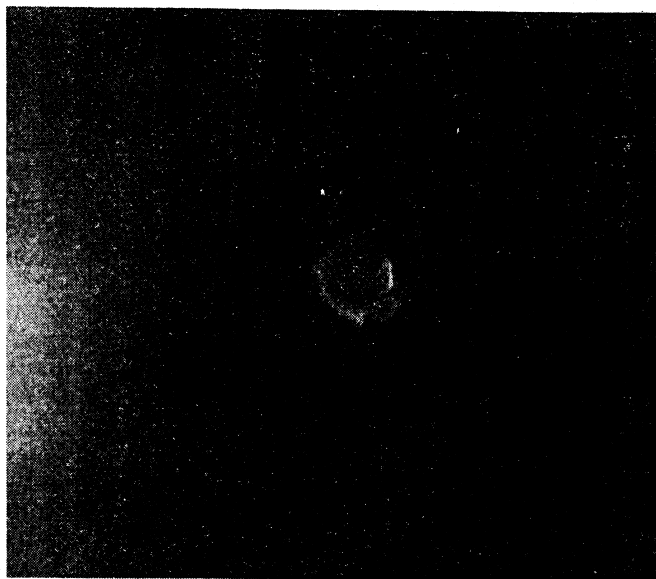


Рис. 1. Диффузная мембранная флюоресценция лимфоцитов, несущих маркер CD3. Здесь и на рис. 2—6: об. 100; гомаль 3.

0,5 мкг/мл). Представляет интерес факт появления кэппинга средней интенсивности флюоресценции (++) при инкубации крови с пептидом в дозах 0,05 и 0,5 мкг/мл, а также увеличения практически в 2 раза процента клеток с кластеризацией рецепторов (++) и кэппингом сильной флюоресценции (+++) (рис. 2).

Исследование экспрессии CD4 выявило изменение флюоресценции клеток, которые инкубировали с пептидом в дозах 0,05 и 0,12 мкг/мл. Общее количество клеток с флюоресценцией увеличилось с 49% до 57 и 55% (СЦК 0,73 и 0,76 против исходного 0,58). Обращает на себя внимание увеличение кластеризации рецепторов слабой и сильной степени флюоресценции (0,05 мкг/мл) и появление флюоресценции в виде пэтчей (+, ++) (рис. 3).

Маркировка клеток МКАТ против CD8 выявила увеличение общего содержания клеток с флюо-

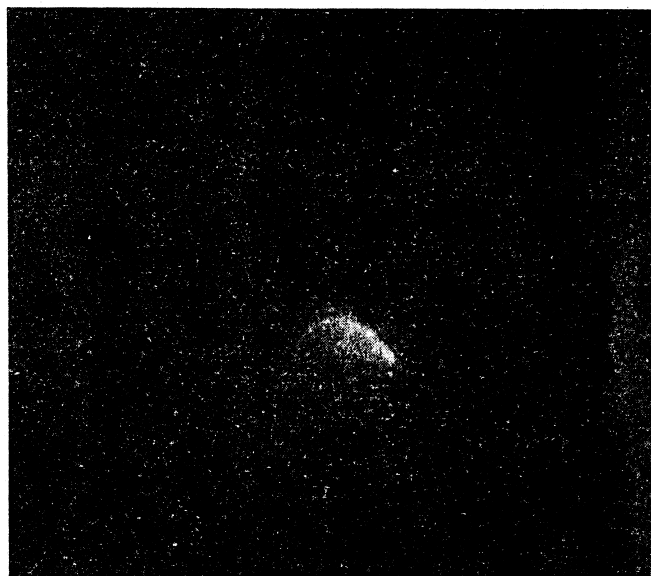


Рис. 2. Кэппинг сильной флюоресценции CD3 на лимфоцитах под действием пептидного комплекса.



Рис. 3. Флюоресценция CD4 в виде пэтчей средней степени интенсивности на лимфоцитах под действием пептидного комплекса.



Рис. 5. Увеличение кэппинга и кластеризация рецепторов HLA-DR на лимфоцитах под действием пептидного комплекса.

ресценцией при инкубации с пептидом в дозе 0,05 мкг/мл и его уменьшение при использовании дозы 0,5 мкг/мл. Увеличилось количество клеток с кэппингом рецепторов слабой степени флюоресценции (+) и уменьшилось с кэппингом рецепторов сильной степени флюоресценции (+++). Инкубация крови с пептидом в дозе 0,5 мкг/мл вызвало значительное увеличение образования пэтчей (++, +++) (рис. 4).

При использовании МКАТ против HLA-DR увеличился процент клеток с флюоресценцией при дозах пептида 0,12 и 0,5 мкг/мл. Характерным было выраженное увеличение кэппинга и кластеризации рецепторов (++) (рис. 5). В то же время при исследовании мембранного маркера CD22 отмечалось снижение процента клеток с флюоресценцией (рис. 6).

Рецепторный аппарат клеток — динамическая, лабильная и высокоселективная система, которая

обеспечивает как коммуникацию клеток с внешней средой, так и регуляцию их функциональной активности. Действие на клетки ряда биологически активных соединений — гормонов, антигенов, лектинов — связано с образованием агрегированных лиганд-рецепторных комплексов (кластеров мембранных рецепторов) и их перераспределением в плоскости мембраны и трансмембранным перемещением [13]. Согласно результатам наших исследований, под действием пептидного комплекса почек наблюдались изменения экспрессии специфических рецепторов лимфоцитов, перегруппировка (кэппинг, пэтч, полулунное расположение) и появление новых кластеров.

Действие пептидного комплекса было направлено на рецепторные структуры преимущественно Т-клеток (CD3, CD4, CD8, HLA-DR). Это действие сопровождалось дозозависимым усилением их



Рис. 4. Появление пэтчей CD8 сильной интенсивности на лимфоцитах под действием пептидного комплекса.



Рис. 6. Характерная картина флюоресценции CD22 на лимфоцитах под действием пептидного комплекса.

экспрессии и изменением функционального состояния.

Учитывая, что CD3 принимают участие в формировании Т-клеточного рецептора (TCR), можно предположить, что усиление экспрессии CD3 сопровождается сходными изменениями состояния TCR [15]. Такие изменения приводят к усилению экспрессии молекул HLA-DR (главного комплекса гистосовместимости — ГКГС) на мембране лимфоцитов, что характерно для активированных Т-клеток. По-видимому, такие изменения более свойственны для Т-хелперов/индукторов (CD4), чем для Т-супрессоров/эффекторов (CD8). Вероятно, это объясняется различным характером взаимодействия пептидов с данными клетками (пептиды представляются Т-хелперам в контексте ГКГС II класса, а Т-супрессорам — в контексте ГКГС I класса). В таком случае остается открытым вопрос: взаимодействуют пептиды с Т-клетками самостоятельно или в контексте молекул ГКГС.

Если пептид взаимодействует с Т-клеткой в комплексе с молекулами ГКГС, то как введенный в среду свободный пептид взаимодействует с молекулой ГКГС, в которую в физиологических условиях уже встроены пептиды? S. Valitutti и A. Lanzavecchia [22] показали, что на поверхности антигенпредставляющих клеток почти всегда существуют (особенно в условиях низких температур) свободные от пептида молекулы ГКГС, однако весьма нестабильные. Стабилизация наступает после взаимодействия с пептидами, в том числе с экзогенными. Образовавшийся комплекс пептид—ГКГС может взаимодействовать с множеством TCR, т. е. малое число лигандов взаимодействует с большим числом рецепторов.

Взаимодействие комплекса пептид—ГКГС с TCR может приводить к различным последствиям [16] — от полной активации Т-клеток до нуль-реакции.

Таким образом, комплекс пептидов коркового вещества почек может вызывать изменение функционального состояния Т-клеток, сопровождающееся усилением экспрессии комплекса TCR—CD3, образованием кластеров мембранных рецепторов. При этом активационные события касаются преимущественно Т-клеток, несущих CD4, но не CD8. CD22-положительные клетки отвечают снижением экспрессии в ответ на действие пептидного комплекса.

Эти данные свидетельствуют о том, что тканевые пептидные комплексы способны изменять состояние клеток иммунной системы, осуществляя связь между специализированными паренхиматозными клетками и иммуноцитами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П. // *Вопр. мед. химии.* — 1984. — № 3. — С. 2—7.
2. Ашмарин И. П., Обухова М. Д. // *Биохимия* — 1986. — Т. 51, № 4. — С. 531—545.
3. Гриневич Ю. А., Чеботарев В. Ф., Никольский И. С. *Иммунобиология гормонов тимуса.* — Киев, 1989. — С. 125—149.
4. Кайдашев И. П., Катрушев А. В., Цебржинский О. И., Мищенко В. П. // *Физиология и патология гемостаза: Сборник тезисов Всесоюз. конф.* — Полтава, 1991. — С. 32—34.
5. Кайдашев И. П. // *Физиол. журн.* — 1993. — Т. 39, № 5—6. — С. 52—56.
6. *Лимфоциты. Методы* / Под ред. Дж. Клауса. — М., 1990.
7. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х., Кожемякин А. Л., Кожемякин Л. А. // *Вопр. мед. химии.* — 1982. — № 4. — С. 114—118.
8. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х. // *Успехи соврем. биол.* — 1983. — Т. 96, № 6. — С. 339—352.
9. Морозов В. Г., Хавинсон В. Х., Кузник Б. И. и др. // *Гематол. и трансфузиол.* — 1984. — № 4. — С. 35—37.
10. *Современные проблемы ревматологии: Науч. обзор* // Под ред. В. А. Насоновой. — М., 1974.
11. *Способ одержання біологічно активної речовини, що має регенераторну та модулюючу дію.* А. с. № 94052069, Україна.
12. *Структурные основы действия пептидных и белковых иммунорегуляторов* / Под ред. Г. И. Чипенса. — Рига, 1990.
13. Тимошенко А. В., Черенкевич С. Н. // *Успехи соврем. биол.* — 1990. — Т. 109, № 2. — С. 206—218.
14. Boyum A. // *Scand. J. clin. Lab. Invest.* — 1968. — Vol. 21. — Suppl. 97. — P. 77.
15. Damjanovich S., Szollosi J., Tron L. // *Immunol. Today.* — 1992. — Vol. 13, N 8. — P. A12—A15.
16. Evavold B. D., Sloan-Lancaster J., Allen P. M. // *Ibid.* — 1993. — Vol. 14, N 12. — P. 602—612.
17. Leibnitz R. // *Basel Institute for Immunology: Annual Report.* — Basel, 1995. — P. 41.
18. Nadel J. A. // *Allergologie.* — 1989. — Bd 12, Sondernum. — S. 136—138.
19. Roth Y., Le Roith D., Collier E. S. et al. // *J. Immunol.* — 1985. — Vol. 135, N 2. — P. 770—776.
20. Schild H., Rotzschke O., Kalbacher H., Rammensee H.-G. // *Science.* — 1990. — Vol. 247, N 4950. — P. 1587—1589.
21. Stoltz S., Palmer E. // *Basel Institute for Immunology: Annual Report.* — Basel, 1995. — P. 41.
22. Valitutti S., Lanzavecchia A. // *Ibid.* — P. 40—41.

Поступила 23.07.97

## PARTICIPATION OF THE PEPTIDE COMPLEX FROM THE KIDNEYS IN REGULATION OF EXPRESSION OF SOME LEUKOCYTE RECEPTORS — L. E. Vesnina, I. P. Kaidashev

**Summary.** We have investigated the effect of peptides complex from the renal cortex on the expression of leukocytes receptors (CD3, CD4, CD8, CD22, HLA-Dr) after incubation of donor blood with the peptide complex during 60 minutes at 37°C. We observed modification of T-cell function accompanied by dose-dependent intensification of TCR-CD3 complex expression, formation of clusters of membrane receptors, rearrangement (capping, patch, semicircle arrangement) in response to the action of the kidney complex. The activation concerned primarily T-cell CD4 but not CD8. The expression of CD22-positive cells tended to decrease. Thus, tissue peptide complexes are able to modify function of immune system cells serving as a connection between specialized parenchymatous cells and immunocytes.