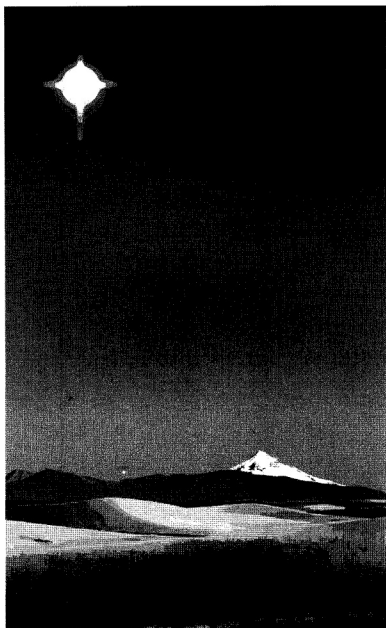


# ЕВРАЗИЙСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 1. СЕНТЯБРЬ 2003



Алматы - Новосибирск

СКРИНИНГ ПРОИЗВОДНЫХ АРИЛГЕТЕРОАЛКАНКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

В.Л. Лимонов\*, О.П. Колесникова\*\*, О.Т. Кудалева\*\*

ООО "АБОЛмед" (г. Москва, Россия)

НИИ клинической иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск, Россия)\*\*

Изучение характера эффекта воздействия различных химических соединений на митоген-стимулированную пролиферацию иммунокомпетентных клеток является одним из широко распространенных экспериментальных подходов при скрининге новых иммуномодуляторов.

Функциональный ответ клеток на митогены в культуре *in vitro* характеризуется общими чертами с формированием специфического иммунного ответа *in vivo* на тот или иной антиген: взаимодействие разных субпопуляций иммуноцитов, сочетание пролиферативного ответа и дифференцировки антигенреактивных клеток. Однако существенным отличием этого ответа является выраженная поликлональность действия митогенов - происходит активация большого числа разных по антигенной специфичности клеток, способных к пролиферации и дифференцировке. Именно поэтому митогенстимулированные культуры являются адекватной и удобной моделью для изучения функций иммунной системы в целом и отдельных функциональных популяций лимфоцитов безотносительно к их антигенной специфичности. В настоящее время модельная тест-система Кон-А-индуцированной стимуляции синтеза ИЛ-2 является одной из основных при отборе новых природных иммуносупрессоров среди вторичных метаболитов микробного происхождения (циклоспорин А, FK506, рапамидин).

Нами проведен скрининг иммуноактивных свойств новых производных из арилгетероалканкарбонновых кислот, синтезированных в Иркутском институте органической химии СО РАН, имеющих условные обозначения ВМ-38-80, ВМ-38-81 и ВМ-2-84 по их влиянию *in vitro* на спонтанную, митоген- (разные дозы Кон-А и ЛПС) и антигенстимулированную (СКЛ) пролиферацию клеток селезенки интактных мышей. Сравнение соединений проводили с циклоспорином А (цСА) и индометацином.

Установлено, что соединения в дозе 5 и 250 мкг/мл достоверно подавляют спонтанную и Кон-А-стимулированную (в дозе 5, 10, 25 мкг/мл) пролиферацию клеток селезенки мышей. цСА в дозе 200 нг/мл при всех дозах митогена также достоверно подавляет пролиферацию клеток селезенки, что согласуется с литературными данными, - в культуре *in vitro* максимально ингибирующие пролиферацию и секрецию ИЛ-2 дозы цСА составляют от 100 до 400 нг/мл.

Известно, что доза Кон-А в 25 мкг/мл вызывает образование ПГЕ<sub>2</sub>-индуцированных супрессоров, что приводит к достоверной ингибции пролиферации клеток селезенки. Индометацин в дозе 5 и 50 мкг/мл, но не 250 мкг/мл, при одновременном внесении с митогеном приводил к достоверной отмене ингибции пролиферации клеток селезенки. В первичной аллогенной культуре лимфоцитов соединения ВМ-38-80 и ВМ-2-84 достоверно подавляли пролиферативный ответ при любой из трех доз: 5, 50, 250 мкг/мл, причем дозовая зависимость установлена не была.

Далее было проведено изучение механизма иммуносупрессивного действия соединения ВМ-2-84 в сравнении с индометацином и цСА на спонтанную и Кон-А-стимулированную пролиферативную активность небогатой и обогащенной Т-клетками популяции спленоцитов в зависимости от времени внесения в культуру. Показано, что только ВМ-2-84 и цСА проявляют ингибирующий эффект при внесении в спонтанную культуру спленоцитов в 0 часов от начала культивирования. При этом внесение цСА в культуру на 24 и 48 час от начала культивирования приводит к увеличению пролиферации, что, как известно, связано с его влиянием на раннюю G<sub>1</sub> фазу и обратной блокадой выработки ИЛ-2. При этом соединение ВМ-2-84, напротив, проявляет ингибирующий эффект при внесении на 24 и 48 час от начала культивирования.

В общем виде эффект соединений на Кон-А-стимулированную пролиферацию в оптимальной дозе митогена выглядит следующим образом: цСА - ингибция ответа эффективна только в 0 часов, индометацин - ингибция ответа эффективна только в 48 часов. Иммуносупрессивный Т-лимфотропный эффект разных доз соединения ВМ-2-84 выявляется в культуре спленоцитов, обогащенной Т-клетками, при этом отчетливо видно, что иммунодепрессивный эффект цСА выявляется только в начальный период инкубации (0 часов), внесение цСА через 48 часов от начала культивирования не выявляет такого эффекта. При этом соединение ВМ-2-84, внесенное через 48 часов, достоверно подавляет Кон-А-индуцированную пролиферацию Т-клеток селезенки.

Анализ эффектов цСА и ВМ-2-84 на Кон-А-индуцированную пролиферацию обогащенной Т-клетками культуры клеток селезенки свидетельствует о большей степени сходства механизмов ингибции пролиферации, тогда как различия касаются главным образом в меньшей степени ингибции пролиферации под действием ВМ-2-84 при внесении в 0 часов и в различии дей-

ствия при внесении в культуру на 48-м часу инкубации. Снижение степени ингибиции пролиферации Т-клеток по мере увеличения времени между моментом начала инкубации клеток с митогеном и моментом добавления цСА связано с тем, что если сами Т-клетки под влиянием антигена или лектина экспрессируют рецепторы к ИЛ-2, то препарат больше уже не тормозит пролиферацию Т-клеток, поддерживаемую ИЛ-2, тогда как предобработанные цСА Т-клетки не экспрессируют рецепторы к ИЛ-2 после их стимуляции антигеном или лектином. В такой же степени, как цСА соединение VM-2-84 достоверно ингибирует ЛПС-индуцированную пролиферацию клеток селезенки (доза митогена 100 мкг/мл) при внесении в 0, 24, 72 часа, как и цСА соединение VM-2-84 достоверно стимулирует пролиферацию клеток селезенки при дозе ЛПС 200 мкг/мл. Соединение VM-2-84 сохраняет свои ингибирующие свойства и в обогащенной В-клетками культуре спленоцитов - в дозе 5 мкг/мл соединение достоверно подавляет стимулированную 50 мкг/мл ЛПС культуру В-клеток.

Таким образом, полученные нами данные говорят о том, что соединения из производных арилгетероалканкарбоновых кислот обладают выраженными иммунодепрессивными свойствами в отношении спонтанной, митоген- и антигенстимулированной пролиферации спленоцитов в культуре *in vitro*. Соединение VM-2-84 проявляет антипролиферативные свойства как в отношении Т-, так и В-лимфоцитов.