

ПОЛИПРЕНИЛФОСФАТ НАТРИЯ (ФОСПРЕНИЛ) В МЕХАНИЗМЕ ЗАВИСИМОГО ОТ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИНГИБИРОВАННОЙ *IN VIVO* ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА

Соболев С.М., Николаева Т.Н., Григорьева Е.А.,
Пронин А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Москва

Резюме. Показано, что полипренилфосфат (фоспренил) конкурирует с интерлейкином 2 за связывание с сывороточным γ -глобулином. Продemonстрировано также, что фоспренил восстанавливает индуцированную *Listeria monocytogenes* гиперчувствительность замедленного типа, подавленную γ -глобулином, который связывается с интерлейкином 2 и блокирует его активность. Обсуждается роль сывороточного γ -глобулина и фоспренила в регуляции интерлейкин-2-зависимых процессов.

Ключевые слова: γ -глобулин, интерлейкин-2, полипренолы, ГЗТ, листериоз.

Sobolev S.M., Nikolaeva T.N., Grigorieva E.A., Pronin A.V.

SODIUM POLYPRENYL PHOSPHATE (PHOSPRENIL) EXERTS AN IL-2-DEPENDENT RESTORATIVE EFFECT UPON *IN VIVO* DTH INHIBITION

Abstract. We have shown that polyphenyl phosphate (phosphrenyl) competes with interleukin 2 for binding with serum γ -globulin. It was also demonstrated that phosphrenyl restores delayed type hypersensitivity induced by *Listeria monocytogenes*, after its inhibition with a γ -globulin which binds to IL-2 and blocks its activity. A role of serum γ -globulin and Phosphrenyl in regulation of IL-2-dependent processes is discussed. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 399-402)

Keywords: γ -globulin, interleukin-2, polyphenols, DTH, listeriosis.

Введение

Иммуномодулятор полипренилфосфат натрия (фоспренил) относится к классу терпеноидных спиртов, участвующих в процессе гликозилирования белков в качестве промежуточных акцепторов углеводов. Фоспренил сохраняет способ-

ность к взаимодействию с гликопротеинами, которые подобно CD25 и γ -глобулину содержат в своей простетической части стереохимически идентичные N-гликаны, распознаваемые также интерлейкином 2 (IL-2) [4, 6].

Конкурируя с IL-2 за связь с CD25, фоспренил блокирует рецепцию этого цитокина клеткой [5]. Напротив, фоспренил способствует более полной реализации иммунобиологической функции IL-2, взаимодействуя с сайтами связывания последнего, находящимися в молекуле γ -глобулина [2, 7]. В итоге соотношение во времени и пространстве обеих тенденций может определять ха-

Адрес для переписки:

Пронин Александр Васильевич
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18.
Тел./факс: (499) 190-58-51.
E-mail: proninaalexander@yandex.ru

ракти и степень модуляции фоспренилом иммунологического процесса.

В настоящей работе в условиях системного моделирования продемонстрирована конкуренция между фоспренилом и IL-2 за связь с сывороточным γ -глобулином, а также влияние фоспренила на зависимое от интерлейкина 2 восстановление ингибированной *in vivo* гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Материалы и методы

Для определения уровня клеточной иммунореактивности *in vivo* использовали реакцию ГЗТ, которую проводили по стандартной схеме [3] на беспородных мышах Центрального питомника лабораторных животных РАМН. Контрольные и опытные группы содержали по 5 мышей. Антигеном служила инактивированная хлороформом агаровая культура *Listeria monocytogenes*. Примиряющая доза антигена при подкожном введении равнялась 5×10^5 КОЕ/0,2 мл, разрешающая доза в стопу задней лапы 5×10^7 КОЕ/0,02 мл. Интервал между первым и вторым введениями антигена составлял 6 суток. Местную воспалительную реакцию оценивали через 24 часа после введения разрешающей дозы антигена по разнице масс опытной и контрольной стоп. Сдвиг индекса реакции (ИР) между опытными и контрольными (несенсибилизированными) группами животных

принимали за достоверный при разнице в показателях $> 5\%$.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с нахождением средних геометрических значений показателей в группах и их стандартных ошибок. Доверительные интервалы и достоверность различий между группами определяли при выбранном уровне вероятности, равном 0,05.

Одновременно в одной аликвоте с антигеном, либо порознь мышам вводили 0,4% фоспренил (ЗАО «Микроплюс», Россия); рекомбинантный IL-2 — «Ронколейкин» 250 тыс. МЕ/мл (ООО «Биотех», Россия); 10% γ -глобулин человека для внутривенного введения (ИМБИО, Россия); неиммунную мышиную аллосыворотку, а также использовали стафилококковый реагент, содержащий протеин А (Институт Пастера, Россия). Дозировки и способы введения препаратов варьировали в соответствии с целью и задачами эксперимента.

Результаты и обсуждение

Взятые в отдельности фоспренил и γ -глобулин достоверно ингибировали ГЗТ к листериозному антигену в первые двое суток ее индуктивной фазы. Эффект, производимый γ -глобулином, но не фоспренилом, отменял введенный через 1 сутки после примиривания рекомбинантный IL-2 (рис. 1 и 2). Это указывало на то, что векторы

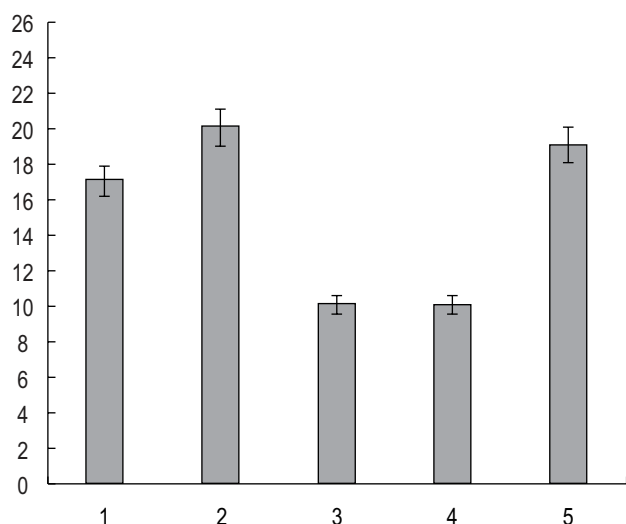


Рисунок 1. Изменение уровня ГЗТ при введении в индуктивной фазе γ -глобулина и рекомбинантного IL-2

Примечание. 1. Примиривание (контроль).

2. γ -глобулин до примиривания.

3. γ -глобулин в день примиривания.

4. γ -глобулин на следующие сутки после примиривания.

5. rIL-2 на следующие сутки после γ -глобулина в день примиривания.

Здесь и на рисунках 2, 3, 4, 5 и 6 по оси ординат индекс реакции (ИР) ГЗТ в %.

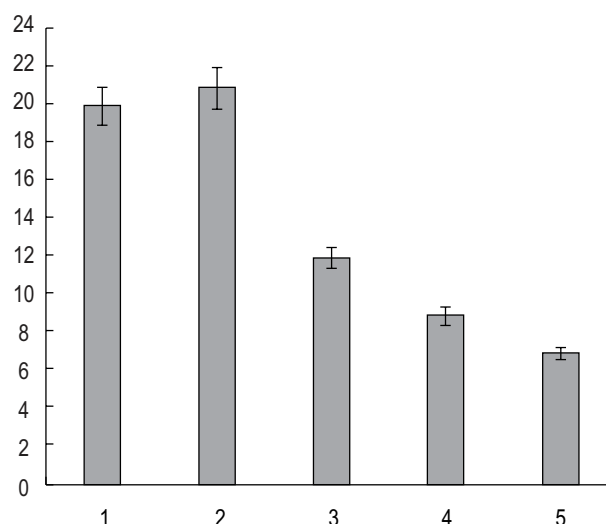


Рисунок 2. Изменение уровня ГЗТ при введении в индуктивной фазе фоспренила и рекомбинантного IL-2

Примечание. 1. Примиривание (контроль).

2. ФП за сутки до примиривания.

3. ФП в день примиривания.

4. ФП на следующие сутки после примиривания.

5. rIL-2 на следующие сутки после ФП в день примиривания.

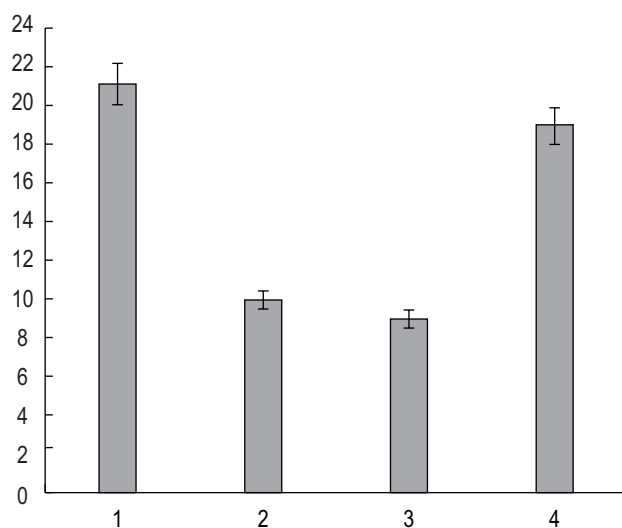


Рисунок 3. Изменение уровня ГЗТ при введении в индуктивной фазе аллосыворотки

Примечание. 1. Примирование (контроль).

2. γ -глобулин в день примирования (контроль).

3. Аллосыворотка в день примирования.

4. pIL-2 на следующие сутки после аллосыворотки в день примирования.

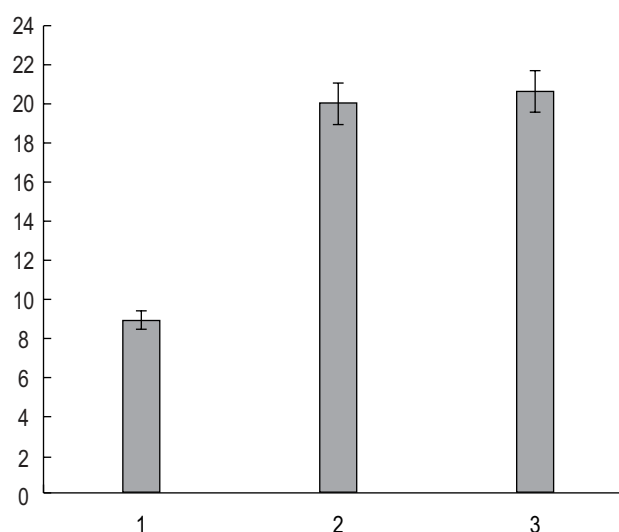


Рисунок 4. Влияние аллосыворотки на уровень ГЗТ при введении рекомбинантного IL-2 или ФП в индуктивной фазе

Примечание. 1. Аллосыворотка в день примирования (контроль).

2. Аллосыворотка с нейтральным комплексом pIL-2 в день примирования.

3. Аллосыворотка с нейтральным комплексом ФП в день примирования.

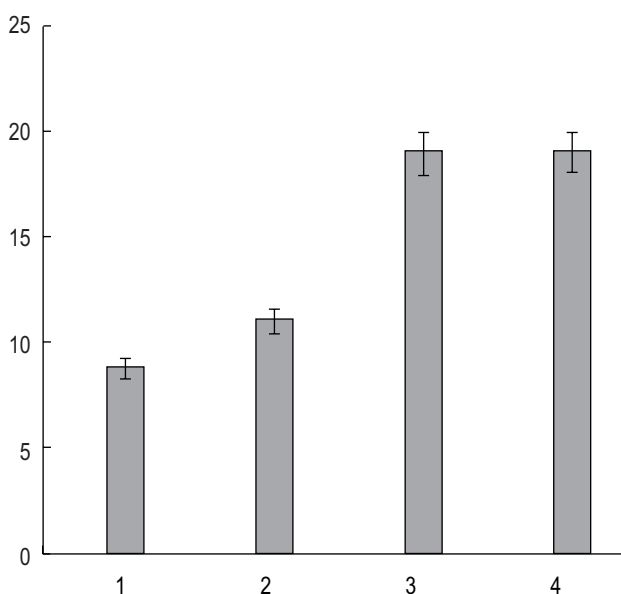


Рисунок 5. Влияние природы имеющегося в аллосыворотке нейтрального комплекса на ее свойство ингибировать или восстанавливать ГЗТ

А. Аллосыворотка с нейтральным комплексом, включающим ФП

Примечание. 1. Аллосыворотка в день примирования (контроль 1).

2. γ -глобулин в день примирования (контроль 2).

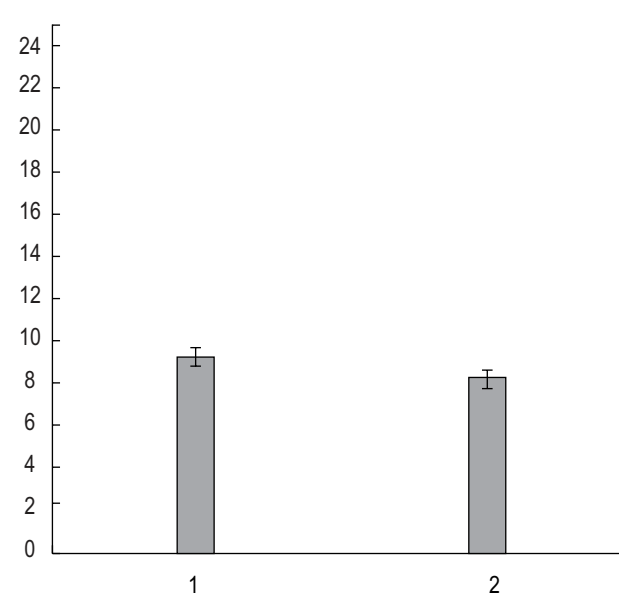
3. pIL-2 на следующие сутки после γ -глобулина в день примирования (контроль 3).

4. Аллосыворотка с нейтральным комплексом ФП и несвязанным pIL-2 на следующие сутки после γ -глобулина в день примирования.

Б. Аллосыворотка с нейтральным комплексом, включающим pIL-2

Примечание. 1. ФП в день примирования (контроль).

2. Аллосыворотка с нейтральным комплексом pIL-2 и несвязанным ФП в день примирования.



действия обоих ингибиторов зависимой от IL-2 фазы формирования эффекторов ГЗТ были направлены на различные посттранскрипционные продукты клеток, активированных через клоноспецифический рецептор: у γ -глобулина на IL-2, а у фоспренила на CD25.

Таким же, как у γ -глобулина, механизмом действия на ГЗТ обладала нативная мышьяная алло-сыворотка (рис. 3).

При совместном введении в одной аликвоте γ -глобулин и фоспренил достоверно утрачивали свойства ингибиторов ГЗТ, так как они в этих условиях образовывали друг с другом нейтральный комплекс, который можно было осадить стафилококковым реагентом-носителем протеина А. Такой же комплекс γ -глобулин образовывал с IL-2, в результате чего последний утрачивал свою биологическую активность. В итоге фоспренил и IL-2 конкурировали друг с другом за связь с γ -глобулином.

В дальнейшем эти обнаруженные локально продукты комплексообразования и конкуренции были найдены в виде циркуляторных форм в сыворотке крови. Так, сыворотки мышей, которые получали внутрибрюшинно фоспренил или рекомбинантный IL-2, одинаково не могли ингибировать ГЗТ к листериозному антигену (рис. 4). Однако свойства сывороток мышей, которые получали их вместе, были различны и зависели от того, что было введено в первую очередь: рекомбинантный IL-2 или фоспренил. В первом случае в такой сыворотке оказывался несвязанный фоспренил и поэтому она ингибировала ГЗТ к листериозному антигену. Во втором — сыворотка содержала несвязанный рекомбинантный IL-2 и могла восстанавливать ГЗТ после ее подавления γ -глобулином (рис. 5А, Б). В обоих случаях первично образованный с сывороточным γ -глобулином комплекс конкурентно препятствовал образованию с ним вторичного.

С одной стороны, обнаруженная амбивалентность сывороточного γ -глобулина должна способствовать ограничению биоактивности IL-2 исключительно пределами начальных медиаторных взаимодействий в тканях. С другой — нейтральные комплексы фоспренила с предсуществующими в организме неспецифическими и специфическими акцепторами эндогенного IL-2 объективно могут повышать терапевтическую эффективность малых доз рекомбинантно-

го IL-2, которая особенно должна быть заметной при таких патоаномалиях, как реактивные гипергаммаглобулинемии или дислокации в кровотоке молекул CD25.

Особого рассмотрения поэтому заслуживают также возможные иммунорегуляторные потенции фоспренила, реализуемые посредством блокады этих молекул, конститутивно представленных на клетках [1].

Список литературы

1. Соболев С.М., Николаева Т.Н., Пронин А.В. О действии иммуномодулятора фоспренила на эффекторную и регуляторную субпопуляции Т-лимфоцитов в реакции ГЗТ *in vivo* // Мед. иммунология. — 2007. — Т. 9, № 2-3. — С. 61.
2. Соболев С.М., Николаева Т.Н., Григорьева Е.А., Пронин А.В. Роль лектинсубстратного распознавания в иммунорегуляторном взаимодействии интерлейкина 2 и IgG // Мед. иммунология. — 2010. — № 1-2. — С. 13-30.
3. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В., Чередеев А.Н., Коган В.Ю. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. — М.: ПРОМЕДЭК, 1993. — С. 222-223.
4. Fukushima K., Jamashita K. Interleukin-2 carbohydrate recognition modulates CTLL-2 cell proliferation // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276, N 10. — P. 7351-7356. Pronin A.V., Ozherelkov S.V., Narovlyansky A.N., Danilov L.L., Maltsev S.D., Deyeva A.V., Grigorieva E.A., Sanin A.V. Role of cytokines in immunomodulatory effect of Polyprenyl Phosphate: new generation of antiviral drugs // Russian J. Immunol. — 2000. — Vol. 5, N 2. — P. 155-164.
5. Raya T.S., Briggs J.B., Borge S.M., Jones A.J.S. Species-specific variation in glycosylation of IgG // Glycobiology. — 2000. — Vol. 10, N 5. — P. 477-486.
6. Sobolev S.M., Pronin A.V. Functional and serological evidences of the nonimmune interaction of interleukin-2 and immunoglobulin G // Russian J. Immunology. — 2000. — Vol. 5, N 2. — P. 204-208.

поступила в редакцию 11.11.2010

отправлена на доработку 12.10.2010

принята к печати 28.09.2011