

**Производное алканкарбоновой кислоты
в коррекции иммунопатологических нарушений
у больных рассеянным склерозом, ассоциированным
с активацией эндогенного ретровируса у человека *HERV-E λ 4-1***

Гольдина И.А., Маркова Е.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии».
630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, д. 14

**An alkanecarboxylic acid derivative
in the correction of immunopathological disorders
in patients with multiple sclerosis associated
with the activation of the human endogenous retrovirus *HERV-E λ 4-1***

Goldina I.A., Markova E.V.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
Yadrincsvskaya street 14, Novosibirsk 630099, Russian Federation

Биологически активные факторы (цитокины, хемокины, ростовые и трофические факторы) выполняют важнейшую роль в нейроиммунных взаимодействиях, обеспечивая адекватную и сопряженную работу регуляторных гомеостатических систем организма. Понимание роли биоактивных факторов в повреждении нейронов послужило стимулом для разработки принципиально новых подходов к лечению заболеваний нервной системы, направленных на предотвращение и купирование нейровоспаления.

Рассеянный склероз (РС) — хроническое аутоиммунное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, в основе которого лежит комплекс воспалительных и нейродегенеративных процессов, приводящих к очаговому и диффузному поражению ЦНС. Современная концепция патогенеза РС рассматривает эндогенные ретровирусы человека (HERVs) как одни из наиболее значимых факторов формирования аутоиммунного воспаления в нервной ткани, что потребовало разработки новых стратегий лечения, основанных на ингибировании активности HERVs [1, 2]. Механизмами реализации провоспалительных свойств HERVs является активация толл-подобного рецептора 3 на эндосомальной мембране, белка, ассоциированного с дифференцировкой меланомы (MDA5), РНК-активируемой протеинкиназы (PKR) и индуцируемого гена I ретиноевой кислоты (RIG-I) в цитоплазме, что приводит к активации ядерного фактора NF-κB и продукции провоспалительных цитокинов, регуляторного фактора интерферона 3 (IRF3), а также интерферонов 1 типа [3, 4]. Известно также, что производные

алканкарбоновых кислот обладают разнообразными иммуномодулирующими эффектами [5]. Учитывая эти данные, целью настоящей работы было исследование цитокинмодулирующих и ретровирус-ингибирующих свойств трис-(2-гидроксиэтил) аммониевой соли 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты у больных РС, ассоциированным с активацией эндогенного ретровируса *HERV-E λ 4-1*.

Материалы и методы. С целью определения влияния трис-(2-гидроксиэтил) аммониевой соли 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты на экспрессию гена *env* *HERV-E λ 4-1* у больных РС, мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) или спинномозговой жидкости (СЖ) выделяли при помощи центрифугирования на градиенте плотности фиколла 1,078 г/см³ (Lymphocyte separation medium, MP Biomedicals, LLC, Eschwege, Germany). Клетки, собранные из интерфазы, трехкратно отмывали средой RPMI-1640 (ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирская область, п. Кольцово) и осаждали центрифугированием. Осадок МНК ресуспендировали в полной культуральной среде RPMI-1640, содержащей 10% сыворотки крови человека АВ (IV) (Новосибирский центр крови), 10мМ Hepes (ICN Biomedicals Inc, Aurora, Ohio), 4×10⁻⁵М 2-меркаптоэтанол (L.Oba Feinchemie), 2Мм L-глутамин (ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирская область, п. Кольцово), 40 мкг/мл гентамицина (ФГУП НПО «Вирион») и доводили до концентрации 2×10⁶/мл. В серии предварительных экспериментов оценивали влияние различных концентраций

(30 мкг/мл, 100 мкг/мл и 300 мкг/мл) трис-(2-гидроксиэтил) аммониевой соли 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты на жизнеспособность МНК крови и СЖ в культуре методом окраски 0,5% раствором трипанового синего.

Экспрессию гена *env* HERV-E λ 4-1 определяли методом обратнo-транскриптазной ПЦР. Геномную РНК получали методом фенольной экстракции с использованием тест – системы ВекторНК – экстракция (Вектор – Бест, Новосибирск). Амплификацию проводили в программируемом амплификаторе «Терцик», ДНК – технологии, Москва), с использованием пар олигонуклеотидных праймеров к HERV-E λ 4-1 *env* (sense: AGAGCCTACATTCGTTTAC, antisense: ACGTATGATCCGATTGAG). Продукты амплификации анализировали методом электрофореза в 2% геле агарозы с добавлением 0,00001% бромистого этидия (ВекторДНК – ЭФ, Вектор – Бест, Новосибирск). Положительными считали образцы с наличием в геле видимой полосы кДНК, соответствующей ожидаемому размеру ампликона (274 п.н.).

Количественное определение спонтанной и стимулированной митогенами продукции цитокинов МНК крови и СЖ *in vitro* проводилось «сэндвич» - вариантом метода твердофазного иммуоферментного анализа в кондиционных средах клеточных культур, согласно инструкции производителя.

Результаты. Было установлено, что трис-(2-гидроксиэтил) аммониевая соль 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты в исследованных концентрациях не изменяла жизнеспособности МНК крови и СЖ больных РС. При этом данное соединение дозозависимо (в концентрациях 100 мкг/мл и 300 мкг/мл) подавляло экспрессию HERV-E λ 4-1 *env* в МНК крови и СЖ больных РС.

У больных РС выявлялась исходно повышенная продукция IL-1 β , TNF- α , g-IFN, IL-6. Трис-(2-гидроксиэтил) аммониевая соль 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты, наряду с подавлением экспрессии HERV-E λ 4-1 *env*, в этих же концентрациях снижала уровни продукции IL-1 β , TNF- α , g-IFN в МНК крови и СЖ больных. При оценке корреляционной

связи между экспрессией HERV-E λ 4-1 *env* и продукцией цитокинов в МНК крови и СЖ под действием трис-(2-гидроксиэтил) аммониевой соли 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты была обнаружена положительная корреляция (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r=0,75$ и $r=0,77$, соответственно), что свидетельствует об ассоциации подавления экспрессии HERV-E λ 4-1 *env* со снижением продукции вышеуказанных цитокинов под действием трис-(2-гидроксиэтил) аммониевой соли 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты.

Заключение. Трис-(2-гидроксиэтил) аммониевая соль 1-бензилиндолил-3-тиоуксусной кислоты подавляет активацию гена *env* HERV-E λ 4-1 в МНК крови и СЖ больных РС, что сопровождается снижением продукции этими клетками провоспалительных цитокинов. Данный эффект позволяет рассматривать это соединение как перспективное средство коррекции иммунологической дисфункции у больных рассеянным склерозом, ассоциированным с активацией эндогенного ретровируса человека HERV-E λ 4-1.

Список литературы

1. Смагин А.А., Гольдина И.А., Гайдуль К.В., Любарский М.С. Исследование пролиферативной активности мононуклеарных клеток крови больных рассеянным склерозом при воздействии пептида региона ENVELOPE эндогенного ретровируса человека HERV-E λ 4-1. *Медицинская иммунология*. 2014; 16(3): 247–256.
2. Gröger V., Emmer A., Staeger M.S., Cynis H. Endogenous Retroviruses in Nervous System Disorders. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021; 14(1): 70. DOI: 10.3390/ph14010070
3. Гольдина И.А., Маркова Е.В. Влияние эндогенного ретровируса HERV -E λ 4-1 на функциональную активность клеток иммунной системы у больных рассеянным склерозом. *Якутский медицинский журнал*. 2019; 4(68): 32–34. DOI: 10.25789/YMJ.2019.68.07
4. Melbourne J.K., Chase K.A., Feiner B., Rosen C., Sharma R.P. Long non-coding and endogenous retroviral RNA levels are associated with proinflammatory cytokine mRNA expression in peripheral blood cells: Implications for schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2018; 262: 465–468. DOI: 10.1016/j.psychres.2017.09.025
5. Гольдина И.А., Сафронова И.В., Гайдуль К.В., Козлов В.А. Цитокинсинтезирующая функция мононуклеарных клеток крови доноров при воздействии производного индолил-тио-алканкарбоновой кислоты с селективными иммунодепрессивными свойствами. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010; 73(3): 25–27.