

# РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

## ГУ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

Телефон: (095) 111-85-68

Факс: (095) 324-07-02

---

### АКТ

исследования влияния препарата «ЦИВИЛИН» на функциональную активность иммунокомпетентных клеток человек *in vitro*

В лаборатории иммуногенетики Медико-генетического научного центра проведено изучение влияния препарата «ЦИВИЛИН» на функциональную активность лимфоцитов *in vitro*. В культуре лимфоцитов периферической крови человека с помощью красителя МТТ было установлено, что «ЦИВИЛИН» в разведениях 1:10, 1:30, 1:100, 1:300, 1:1000, 1:3000, 1:10000, 1:30000, 1:100000 не влияет на основной метаболизм покоящихся лимфоцитов.

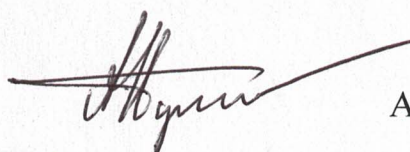
Второй этап работы состоял в выяснении влияния препарата «ЦИВИЛИН» на пролиферирующие лимфоциты человека. Для этого лимфоциты периферической крови здоровых доноров культивировали в 96-луночных панелях фирмы «Costar» в концентрации 100000 кл/лунку в среде RPMI-1640 с добавлением 10% донорской лошадиной сыворотки во влажной атмосфере, содержащей 5% CO<sub>2</sub> при t 37° С в течении 72 часов. Культивирование проводили в присутствии различных доз препарата «ЦИВИЛИН». В качестве митогена использовали фитогемагглютинаина (5 мкг/мл). За 4 часа до окончания инкубации в культуру вносили <sup>3</sup>H-тимидин, затем клетки переносили на стекловолоконные фильтры и производили подсчет включившейся метки в жидкостном сцинтилляционном спектрофотометре. Было установлено, что препарат «ЦИВИЛИН» в разведениях 1:1000, 1:3000, 1:10000, 1:30000 и 1:100000 обладает выраженным дозозависимым антипролиферативным действием, а в разведениях 1:10, 1:30, 1:100, 1:300 полностью подавляет митоген-индуцированную пролиферацию лимфоцитов. При этом расчетная величина ED<sub>50</sub> (концентрация, оказывающая 50-процентный тормозящий эффект) колебалась в пределах 1:2000 – 1:3000.

В третьей части работы исследовали влияние препарата «ЦИВИЛИН» на продукцию таких цитокинов как интерферон гамма (ИФН-γ), характерного для Th1 типа иммунного ответа, интерлейкин 4 (ИЛ-4), являющегося маркером для Th2 типа иммунного ответа, и фактора некроза опухолей альфа (ФНО-α), отвечающего за ранние этапы формирования иммунного ответа.

Для этого лимфоциты периферической крови здоровых доноров культивировали в 96-луночных панелях фирмы «Costar» в концентрации 100000 кл/лунку в течении 48 часов в присутствии фитогемагглютинина (5 мкг/мл) и различных доз препарата «ЦИВИЛИН» (1:300, 1:1000, 1:3000, 1:10000, 1:30000). Затем надосадки собирали и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента определения. Определение содержания цитокинов проводили с помощью твердофазного иммуноферментного метода (тест-системы фирмы «Цитокин»; СПб). Установлено, что «ЦИВИЛИН» не оказывал никакого эффекта на продукцию ИЛ-4, тогда как на продукцию ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  препарат оказывал дозозависимое действие. Обращает на себя внимание, что представленные доноры по-разному реагировали на «ЦИВИЛИН». Если у донора Б (здоровый донор) отмечалось дозозависимое снижение продукции ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ , то у донора А (иммунокомпromетированный донор) на малых дозах отмечалась стимуляция продукции ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  и лишь на больших дозах наблюдалось полное угнетение синтеза исследуемых цитокинов (рис. 1).

**Заключение:** Препарат «ЦИВИЛИН» не влияет на фоновый метаболизм лимфоцитов периферической крови *in vitro*. При этом препарат дозозависимо подавляет митоген-индуцированную пролиферацию вплоть до фонового уровня. «ЦИВИЛИН» в исследованном диапазоне доз не влияет на продукцию ИЛ-4, в то же время, препарат дозозависимо подавляет продукцию ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ , а у иммунокомпromетированных лиц с изначально сниженной продукцией указанных цитокинов «ЦИВИЛИН» в малых дозах (1:30000, 1:10000) способен повышать продукцию указанных цитокинов, а в больших дозах - подавлять. Полученные данные говорят о том, что «ЦИВИЛИН» обладает иммунокорригирующим действием *in vitro* и, что особенно ценно, препарат оказывает избирательное действие на иммунокомпетентные клетки. Однако полученных данных недостаточно, чтобы всесторонне охарактеризовать влияние препарата «ЦИВИЛИН» на иммунную систему. Препарат, несомненно, заслуживает дальнейшего исследования, что позволит более четко обозначить сферу применения и ранг доз для этого перспективного иммуномодулятора растительного происхождения.

Главный научный сотрудник  
лаборатории иммуногенетики  
доктор мед. наук



А.Л. Пухальский

Подпись А.Л. Пухальского заверяю

Ученый секретарь ГУ МП «ЦИВИЛИН»  
кандидат медицинских наук



В.Л. Ижевская

