

УДК 577.161.2

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА GcMAF С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Снегирева Ю.С. (ИТМО), Иванов Н.А. (Новосибирский государственный университет)

Научный руководитель – кандидат биологических наук Кирикович С.С. (ИЦиГ СО РАН)

**Введение.** Увеличение распространенности воспалительных заболеваний повышает спрос на поиск новых терапевтических подходов. Существующие методы лечения часто имеют ограниченную эффективность и могут вызывать серьезные побочные эффекты. Значительный потенциал в роли модулятора иммунного ответа продемонстрировал препарат, получаемый из витамин Д3-связывающего белка крови (DBP). Нативный DBP содержит один трисахарид, ковалентно связанный с треонином в позиции 420 и состоящий из N-ацетилгалактозамина (GalNAc) с присоединенными к нему галактозой и сиаловой кислотой. Преобразование DBP в GcMAF в организме происходит путем отсоединения от GalNAc галактозы и сиаловой кислоты под действием  $\beta$ -галактозидазы и сиалидазы, локализованных на клеточных мембранах активированных В- и Т-лимфоцитов соответственно [1]. В результате такого селективного дегликозилирования образуется активный белок GcMAF. Считается, что именно GalNAc, входящий в состав активного центра GcMAF, обеспечивает активацию макрофагов.

Основная проблема при получении GcMAF это поиск условий, позволяющих стабильно получать препарат с определенными характеристиками, поскольку показано, что получаемый препарат может обладать различными свойствами: либо провоспалительными, либо противовоспалительными, этим объясняется и широкий спектр действия GcMAF [2].

Данное исследование сосредоточено на процессе получения фактора активации макрофагов GcMAF с заданными противовоспалительными свойствами. Понимание механизмов активации макрофагов GcMAF, синтезирующих либо провоспалительные (IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ), либо противовоспалительные (TGF- $\beta$  и IL-10) цитокины, позволит внести вклад в разработку более эффективных методов лечения воспалительных процессов.

**Основная часть.** Изначально был проведен подбор оптимальных условий выделения DBP и его конвертации в GcMAF путем сайт-специфического дегликозилирования. В исследовании свойств GcMAF использовали комбинацию *in vitro* и *in vivo* экспериментальных моделей. Целенаправленное комбинирование условий конвертации (дозы ферментов, температура, время) позволило разработать оптимальный режим конвертации, определяющий последующий ответ макрофагов.

При поиске механизма воздействия GcMAF на активацию макрофагов было показано, что за выбор направления иммунной реакции макрофагов отвечает связь дегликозилированной молекулы DBP (GcMAF) и специфических рецепторов на цитоплазматической мембране макрофагов. К таким рецепторам относятся С-лектиновые рецепторы CLEC10A, представленные тремя компонентами, различающимися молекулярным весом (29 кДа, 63 кДа и 65 кДа). При функциональном участии 29 кДа деривата CLEC10A в качестве «якоря», молекула GcMAF далее взаимодействует с высокомолекулярными дериватами CLEC10A, давая либо активацию синтеза мРНК провоспалительных цитокинов при взаимодействии с дериватом 65 кДа, либо противовоспалительных цитокинов при взаимодействии с дериватом 63 кДа [2].

Оценка физиологической активности препарата GcMAF проводилась *in vivo* на моделях индуцированного артрита у мышей и интерстициального цистита у крыс. Тяжесть воспаления оценивалась с помощью макроскопических и гистологических методов, на основании анализа патологических изменений в пораженных тканях. Эти эксперименты продемонстрировали достоверный противовоспалительный эффект GcMAF [2].

**Выводы.** Результаты исследования показали, что GcMAF эффективно активирует макрофаги, что приводит к синтезу либо провоспалительных IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (M1-фенотип), либо противовоспалительных TGF- $\beta$  и IL-10 (M2-фенотип) цитокинов в зависимости от условий конвертации DBP [2]. Выявленные оптимальные условия получения GcMAF могут быть использованы в дальнейшем для широкомасштабного получения препарата для лабораторных и клинических исследований. Полученные данные *in vivo* свидетельствуют о значительном терапевтическом потенциале GcMAF в лечении воспалительных заболеваний. Способность препарата GcMAF индуцировать противовоспалительный ответ макрофагов открывает возможности для инновационных методов лечения, которые могут улучшить прогноз для пациентов.

#### **Список использованных источников:**

1. Yamamoto, N.; Kumashiro, R. Conversion of Vitamin D3 Binding Protein (Group-Specific Component) to a Macrophage Activating Factor by the Stepwise Action of Beta-Galactosidase of B Cells and Sialidase of T Cells. *J. Immunol.* 1993, 151, 2794–2802.
2. Kirikovich, S. S., Levites, E. V., Proskurina, A. S., Ritter, G. S., Dolgova, E. V., Ruzanova, V. S., Oshihmi, S. G., Snegireva, J. S., Gamaley, S. G., Sysoeva, G. M., Danilenko, E. D., Tarano, O. S., Ostanin, A. A., Chernykh, E. R., Kolchanov, N. A., & Bogachev, S. S. (2024). Production of GcMAF with anti-inflammatory properties and its effect on models of induced arthritis in mice and cystitis in rats. *Cells, Tissues, Organs*, 1-12.