

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-96

## ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРОБЛАСТОПОДОБНЫХ СИНОВИОЦИТОВ КАК ОСНОВА *IN VITRO* МОДЕЛИ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА \*

### CHARACTERISATION OF FIBROBLAST-LIKE SYNOVIOCYTES AS THE BASIS OF AN *IN VITRO* MODEL FOR TESTING DRUGS FOR RHEUMATOID ARTHRITIS THERAPY

Д. В. Риппинен, А. О. Соловьева

*НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*

D. V. Rippinen, A. O. Solovieva

*Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk*

✉ d.rippinen@g.nsu.ru

#### Аннотация

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное заболевание, распространенность и социальная значимость которого крайне высока. На сегодняшний день идет активный поиск эффективных таргетных препаратов и релевантных *in vitro* тест-систем. В работе проведена сравнительная характеристика линий фибробластоподобных синовиоцитов, выделенных от пациентов с РА. Проанализирована скорость их миграции, секреция цитокинов, ответ на воздействие провоспалительных цитокинов.

#### Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease, the prevalence and social significance of which is extremely high. To date, there is an active search for effective targeting drugs and relevant *in vitro* test systems. In this work we have carried out a comparative characterisation of fibroblast-like synovioocyte lines isolated from patients with RA. Their migration rate, cytokine secretion, and response to proinflammatory cytokines were analysed.

Качественная оценка новых терапевтических препаратов во многом зависит от используемой *in vitro* тест-системы, поэтому подбор модели, отражающей патогенез целевой патологии является важным этапом фармразработки. Ревматоидный артрит (РА) включает сложную сеть взаимодействия различных цитокинов и клеточных элементов, которые запускают воспалительную клеточную инфильтрацию, синовиальную гиперплазию, повреждение хряща и разрушение костной ткани [1]. Участие цитокинов занимает центральное место в патогенезе РА, основными игроками признаны: ФНО- $\alpha$ , IL-6, IL-7, IL-21, IL-23, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-33 и IL-2, высокие концентрации которых характерны для синовиальной жидкости при РА.

Лечение РА в основном связано с использованием модифицирующих заболевание противоревматических антицитокиновых препаратов на основе моноклональных антител (МАТ). Несмотря на большое разнообразие существующих препаратов, активно продолжается поиск эффективных агентов, причем помимо МАТ исследуются препараты на основе ДНК- и РНК-аптамеров, которые лишены недостатков препаратов белковой природы. В связи с этим актуальным является разработка релевантных *in vitro* моделей для тестирования антиревматических препаратов.

В патогенезе РА ведущую роль играют фибробластоподобные синовиоциты (ФПС), характеризующиеся эпигенетически импринтированным агрессивным ростом и являющиеся главной мишенью для терапии данного заболевания, а соответственно, и основой для тестирования антиревматических препаратов. ФПС обладают инвазивностью, высокой миграционной активностью и продукцией провоспалительных цитокинов, включая IL-1, IL-6 и ФНО- $\alpha$ , MMPs, агреганазы, молекулы адгезии [2–4].

Были выделены ФПС из синовиальной оболочки (СО) и синовиальной жидкости (СЖ) пациентов с диагнозом РА. В качестве контроля использовался биоматериал от пациентов без РА. Все полученные клеточные линии были проанализированы на миграционную активность, экспрессию IL-6, в том числе индукцию ФНО, митохондриальную активность, а также проведено иммунофенотипирование по стандартным маркерам мезенхимальных клеток.

Имунофенотип выделенных клеток: CD45<sup>+</sup>44<sup>+</sup>73<sup>+</sup>90<sup>+</sup>. Базовая секреция ФНО- $\alpha$  ФПС статистически не отличалась между клеточными линиями РА<sup>-</sup> (0,2 ± 0,01 пг/мл) и РА<sup>+</sup> (0,18 ± 0,01 пг/мл). В качестве контроля исполь-

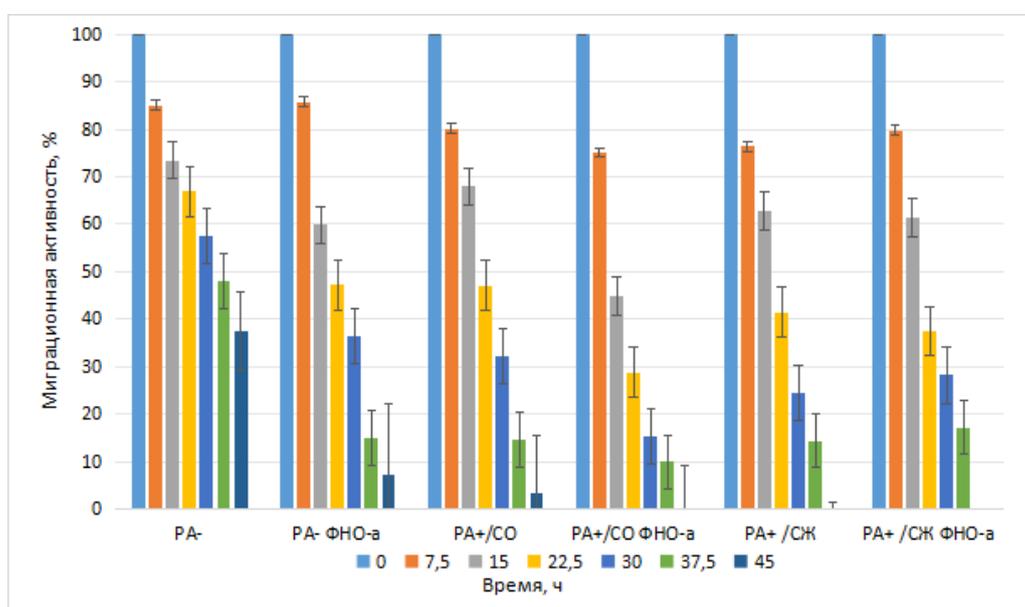
\* Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (номер темы FWNR-2022-0009).

зовалась модельная культура MRC-5 (нормальные фибробласты человека), которая продемонстрировала низкие значения экспрессии ФНО (0,04 пг/мл).

Через 2 ч после добавления СЖ к ФПС RA<sup>+</sup>/СО отличаются повышенной митохондриальной активностью на  $52 \pm 32,9\%$  и  $20 \pm 33\%$  при добавлении ФНО. После 48 ч происходит ингибирование митохондриальной активности на 40 % при добавлении как ФНО, так и СЖ. У ФПС RA<sup>+</sup>/СЖ отмечена повышенная митохондриальная активность после кратковременного воздействия СЖ (24 ч) на  $74 \pm 0,23\%$  без активации через 2 ч. ФНО не повлияло на митохондриальную активность ФПС RA<sup>+</sup>/СЖ.

Добавление СЖ стимулировало все исследуемые ФПС повышение секреции IL-6 (до 390,287 пг/мл). При стимулировании ФНО регистрировалось планомерное повышение IL-6 в течение 48 ч (8,4 пг/мл — базовая секреция, до 447,3 пг/мл стимулированная) ФПС RA<sup>+</sup>/СО. Линия ФПС RA<sup>+</sup>/СЖ не отреагировала на добавление ФНО-а повышением уровня секреции IL-6.

Было показано, что наибольшей базовой пролиферативной и миграционной активностью характеризуются образцы ФПС RA<sup>+</sup>/СЖ. Однако данная клеточная линия не имела отличий при ее стимуляции ФНО-а. Образцы ФПС RA<sup>+</sup>/СО положительно реагировали на влияние ФНО-а, таким образом миграционная активность была выше, чем в образце с контролем (см. рисунок).



Миграционная активность ФПС: RA<sup>-</sup> — ФПС без ревматоидного артрита; RA<sup>-</sup> ФНО-а — ФПС без ревматоидного артрита с добавлением ФНО-а; RA<sup>+</sup>/СО — ФПС от пациента с РА, выделенные из синовиальной оболочки; RA<sup>+</sup>/СО ФНО-а — ФПС от пациента с РА, выделенные из синовиальной оболочки с добавлением ФНО; RA<sup>+</sup>/СЖ — ФПС от пациента с РА, выделенные из синовиальной жидкости; RA<sup>+</sup>/СЖ ФНО-а — ФПС от пациента с РА, выделенные из синовиальной жидкости с добавлением ФНО

В результате исследования были проанализированы клеточные линии, полученные от пациентов с РА (пункт СЖ и операционный материал синовиальной оболочки). Таким образом, отмечается, что не все ФПС реагируют на ФНО, поэтому при тестировании анти ФНО препаратов (МАТ, аптамеры) необходимо тестировать ФПС RA<sup>+</sup> по чувствительности к ФНО.

### Литература

1. Sobh M. M., Abdalbary M., Elnagar S. et al. Secondary osteoporosis and metabolic bone diseases // J. Clin. Med. 2022.
2. Jiang H., Zhang Z., Yu Y. et al. Drug Discovery of DKK1 Inhibitors // Front Pharmacol. 2022.
3. Niu Yuting. Aptamer-immobilized bone-targeting nanoparticles in situ reduce sclerostin for osteoporosis treatment // Nano Today. 2022. Vol. 45. P. 101529.
4. Pap T., Korb-Pap A. Cartilage Damage in Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis—Two Unequal Siblings // Nat. Rev. Rheumatology. 2023. No. 11. P. 606–615.