

Article original

2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimule la prolifération in vitro des lymphocytes humains et la sécrétion des interleukines

2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine stimulates in vitro human lymphocyte proliferation and interleukin secretion

F.-Z. Baba Ahmed^a, S. Bouanane^a, S.-A. Merzouk^b, H. Merzouk^{a,*}, W. Medjahed^c,
J. Kajima Mulengi^c, J. Prost^d

^a Laboratoire de physiologie animale et biochimie, département de biologie, faculté des sciences, université Abou-Bekr-Belkaid, BP 119, Imama, 13000 Tlemcen, Algérie

^b Département de physique, faculté des sciences, université Abou-Bekr-Belkaid, BP 119, Imama, 13000 Tlemcen, Algérie

^c Laboratoire de chimie organique, substances naturelles et analyses (COSNA), département de chimie, faculté des sciences, université de Tlemcen, Algérie

^d UPRES 2422, lipides et nutrition, UFR sciences de la vie, 6, boulevard Gabriel, université de Bourgogne, 21000 Dijon France

Reçu le 23 février 2007 ; accepté le 9 mai 2007

Disponible sur Internet le 3 juillet 2007

Résumé

But de l'étude. – Il a été démontré que les aziridines possèdent une activité immunotropique marquée. Dans ce travail, les effets in vitro d'une aziridine nouvellement synthétisée (2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine) sont déterminés sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par les agents mitogènes, et sur la sécrétion des interleukines 2 et 6 (IL-2, IL-6).

Matériel et méthodes. – Les lymphocytes du sang périphérique sont isolés par centrifugation différentielle dans un gradient de Ficoll-Paque. Ils sont mis en culture en présence d'agents mitogènes (concanavaleine A, lipopolysaccharide) et de différentes concentrations de l'aziridine testée. La détermination de la prolifération lymphocytaire se fait par le comptage des cellules et par la méthode du MTT [3-(4,5-Dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tétrazolium bromide]. Après les différentes incubations, le dosage des IL-2 et IL-6 se fait par méthode Elisa.

Résultats. – L'aziridine utilisée stimule considérablement la prolifération des lymphocytes T et B, en absence ou en présence des mitogènes, à des concentrations allant de 1 μ M à 1 mM, d'une manière dose-dépendante. De plus, l'aziridine induit une augmentation significative de la sécrétion des IL-2 et des IL-6.

Conclusion. – La 2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine est potentiellement immunostimulante et peut être utilisée en immunothérapie à médiation non spécifique, cellulaire ou humorale.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Aim of this work. – Aziridines have been shown to possess marked immunotropic activity. In this study, the in vitro effects of a new aziridine, 2-hydroxy-methyl-1(N-phtaloyltryptophyl) aziridine, were determined on the proliferative responses of human lymphocytes stimulated by mitogens and on interleukin (IL-2, IL-6) secretion.

Material and methods. – Peripheral blood lymphocytes were isolated using differential centrifugation on a density gradient of Ficoll-Paque. They were cultured with or without mitogens (Concanavalin A and lipopolysaccharide), and with different concentrations of the aziridine. Proliferation was monitored by direct cell counts and confirmed by MTT [3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay. After different incubations, IL-2 and IL-6 were determined by using commercially available Elisa kits.

Results. – The aziridine tested significantly stimulated the resting and mitogen T and B lymphocyte proliferation at concentrations between 1 μ M and 1 mM, in a dose-dependent manner. It also increased IL-2 and IL-6 secretion.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : hafidamerzouk_2@hotmail.com (H. Merzouk).

Conclusion. – 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine displayed immunomodulatory properties and is potentially immunostimulant. It could be used to provide non-specific cell-mediated immune responses.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Aziridine ; Interleukine ; Lymphocyte prolifération ; Mitogènes

Keywords: Aziridines; Interleukins; Lymphocyte proliferation; Mitogens

1. Introduction

Les progrès et les découvertes réalisés ces derniers temps dans la compréhension de l'oncologie ont contribué à l'amélioration des stratégies thérapeutiques. Les aziridines représentent des agents chimiothérapeutiques d'un grand intérêt dont les activités anticancéreuses et antibiotiques sont largement démontrées [1–3]. Ces molécules sont des agents alkylants, se fixant par liaisons covalentes et entraînant des lésions de l'ADN [4,5]. Afin d'améliorer leur biodisponibilité et leur activité thérapeutique, un grand nombre d'aziridines ont été synthétisées et caractérisées pendant plus d'une décennie. L'importance de ces composés s'étend de leur utilité dans le développement de nouveaux médicaments potentiels à visée anticancéreuse ou antivirale à leurs fonctions biologiques. Il a été démontré que les aziridines possèdent une activité immunotropique marquée. Les aziridines modulent les deux systèmes immunitaires aussi bien humoraux que cellulaires [6–8]. Par conséquent, afin de mettre en valeur leurs propriétés biologiques, les nouvelles voies de synthèse, simples et efficaces sont recommandées. De plus, la modulation des cellules immunocompétentes, particulièrement celles impliquées dans l'activité des lymphocytes est d'un grand intérêt dans le traitement des maladies immunes. De plus, l'immunothérapie constitue une nouvelle voie d'approche pour la thérapie des cancers. Afin d'explorer de nouvelles aziridines à activité biologique, nous avons synthétisé une aziridine à partir d'aminocyl azides protégés selon un mécanisme précédemment décrit [9]. Dans cette étude, nous avons examiné les effets *in vitro* de la 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine sur la prolifération des lymphocytes humains stimulés par les mitogènes. Puisque les interleukines 2 (Il-2) et les interleukines 6 (Il-6) sont des cytokines jouant un rôle important dans la prolifération des lymphocytes [10,11], nous avons également déterminé la production des Il-2 et des Il-6 par les lymphocytes stimulés en l'absence ou en présence de cette aziridine.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

Les échantillons de sang proviennent de sujets volontaires sains ($n = 10$). Les prélèvements sont réalisés le matin (8:00h–10:00h) à jeun, au niveau de la veine du pli du coude. Le sang est collecté dans des tubes avec un anticoagulant (héparine). Ces échantillons sont utilisés pour l'isolement immédiat des lymphocytes. Le but de l'étude est expliqué aux sujets volontaires et leur consentement écrit est préalablement obtenu. Le protocole est approuvé par le comité d'éthique du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie).

La 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine est synthétisée pour la première fois au niveau du laboratoire COSNA (Chimie organique, substances naturelles et analyses) de l'université de Tlemcen. Les réactions chimiques utilisées pour la préparation de cette aziridine à partir du tryptophane ont été publiées et décrites précédemment [9]. La structure chimique de l'aziridine testée est donnée dans la Fig. 1.

2.2. Test de transformation lymphoblastique (TTL)

Les lymphocytes sont isolés du sang veineux hépariné, le jour même du prélèvement, par centrifugation différentielle (400 g pendant 40 minutes) dans un gradient de Ficoll-Paque (Pharmacia Biotech, Suisse). Les lymphocytes sont récupérés à l'interface entre le plasma et le Ficoll-Paque puis sont lavés deux fois avec un milieu de culture, RPMI 1640 (Gibco, États-Unis). Après lavage et comptage, une suspension cellulaire est ajustée à une concentration de 4×10^6 cellules/ml. Afin de déterminer la prolifération cellulaire, 4×10^5 cellules sont mises en culture dans 200 μ l de milieu RPMI 1640 auxquels sont ajoutés le tampon HEPES (25 mM), 10 % sérum du veau foetal, L-Glutamine (2 mM), 2-mercaptoéthanol (5×10^{-5} M), pénicilline (100 UI/ml) et streptomycine (100 μ g/ml) en présence ou en absence des agents mitogènes. La concanavaline A (Con A Sigma, Saint-Louis, MO, États-Unis), mitogène spécifique des cellules T est utilisée à une concentration finale de 5 μ g/ml et la lipopolysaccharide (LPS, Sigma, Saint-Louis, MO, États-Unis) mitogène spécifique des cellules B à une concentration finale de 20 μ g/ml. Les cultures sont réalisées en triples, sur des plaques Elisa de 96 puits à fond plat (Nunc, Paris, France) et incubées 48 heures à 37 °C, 5 % de CO₂. Pour déterminer l'effet de l'aziridine, les lymphocytes sont mis en culture en présence de l'aziridine préalablement solubilisée dans l'éthanol, à différentes concentrations finales (0–1 μ M–10–50 μ M–500 μ M–1mM). À la fin de l'incubation, les

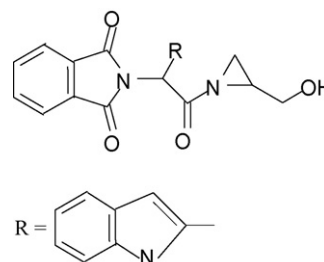


Fig. 1. Structure chimique de l'aziridine testée dans cette étude. Les voies de synthèse de la 2-hydroxy-methyl-1-(N-phtaloyltryptophyl) aziridine à partir d'acide aminé, tryptophane, sont détaillées dans l'article Medjahed et al. 2004 [9].

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4136748>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4136748>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)