

КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРНЫМ АНАЛОГОМ ГАМК-СОЕДИНЕНИЕМ РГПУ-147

И. Н. Тюренков, М. А. Самотруева, Д. Л. Теплый**, Т. К. Серезжникова, Н. Р. Кулешевская*

Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ ВолГМУ,
Астраханская государственная медицинская академия,
Астраханский государственный университет***

На модели циклофосфамидной иммунодепрессии изучены иммунокорректирующие свойства структурного аналога ГАМК-соединения РГПУ-147 при однократном внутривнутрибрюшинном введении (в дозах 36,5; 75 и 146 мг/кг) и двухнедельном пероральном применении (в дозе 50 мг/кг), а также при применении до индукции циклофосфамидной иммунодепрессии и в условиях развивающейся иммунной недостаточности. Изучали степень выраженности гуморальной (титр антиэритроцитарных антител) и клеточной (индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа) реакций иммунного ответа. Полученные результаты свидетельствуют о способности РГПУ-147 при однократном и курсовом применении предотвращать и устранять экспериментально-индуцированные иммунные нарушения.

Ключевые слова: соединение РГПУ-147, циклофосфамид, иммуносупрессия, иммунокоррекция, клеточная и гуморальная иммунореактивность.

CORRECTION OF IMMUNE DISORDERS WITH STRUCTURAL GABA-ANALOGUES — RGPU-147

I. N. Tyurenkov, M. A. Samotrueva, D. L. Teply, T. K. Serezhnikova, N. R. Kuleshevskaya

There were made experimental studies of immunocorrective RGPU-147 properties upon a single intra-abdominal introduction in the dosage of 36,5; 75 and 146 mg/kg and peroral usage in the dose of 50 mg/kg for two weeks, as well as upon administration to the point of induction of cyclophosphamide immunodepression and in conditions of developing immune insufficiency. The degree of humoral reaction (titer of antierythrocytic antibodies) expression and cellular reaction (the hypersensitivity reaction of slowed-up type index) of immune response. The results showed the ability of RGPU-147 to prevent and to relieve experimentally induced immune disorders upon single and systematic administration.

Key words: GABA-analogue, cyclophosphamide, immunosuppression, immunocorrection, cellular and humoral immunoreactivity

В последние десятилетия проблема психонейроиммуномодуляции перестала быть исключительно теоретической и нашла свое клиническое применение как в неврологической и психиатрической практике, так и при соматической патологии [1, 7]. Выявленная взаимосвязь между наличием и степенью тяжести психопатологической симптоматики и функционированием иммунной системы делает актуальным изучение иммунокорректирующих свойств психофармакологических средств.

В качестве психоиммунокорректора представляет интерес химическое соединение под лабораторным шифром РГПУ-147, являющееся производным известного психотропного препарата фенибута. РГПУ-147 — вещество с широким спектром биологической активности — рассматривается как основа для разработки лекарственного средства с анксиолитическим, ноотропным, церебро- и кардиопротекторным, а также иммунотропным действием [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Экспериментальное изучение иммунокорректирующей активности РГПУ-147 при однократном внутривнутрибрюшинном и курсовом пероральном введении в разных дозах и в разное время относительно индукции циклофосфамидом вторичной иммуносупрессии.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведен на 240 мышах линии СВА обоего пола 3—4-месячного возраста, полученных из питомника филиала «Андреевка» Научного центра биомедицинских технологий Российской академии медицинских наук. Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми «Международной конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986).

В ходе исследования поставлено 3 серии опытов: в 1-й серии проводили изучение иммунокорректирующих свойств РГПУ-147 при однократном внутривнутрибрюшинном введении в трех дозах (36,5; 75 и 146 мг/кг); во 2-й серии — изучение иммунокорректирующих свойств РГПУ-147 при 14-дневном пероральном введении (в дозе 50 мг/кг); 3-я серия заключалась в изучении влияния РГПУ-147 при трехкратном внутривнутрибрюшинном введении (в дозе 50 мг/кг) с интервалом в 3 дня до и после индукции иммунодепрессии.

Экспериментальные животные в каждой серии эксперимента были разделены на группы ($n = 10$): контроль № 1 представлен животными, получавшими

ми физиологический раствор в эквивалентном объеме (аналогично способу и кратности введения изучаемого вещества в каждой серии); в контроле № 2 использованы мыши с моделью иммунодепрессии, получавшие физиологический раствор; опытные группы — иммунодепрессированные животные, получавшие РГПУ-147 в соответствии с поставленной задачей в каждой серии эксперимента. Экспериментальное моделирование иммунологической недостаточности проводили путем интраперитонеального введения циклофосамида («Деко», Россия) в дозе 100 мг/кг [2].

Изучение влияния РГПУ-147 на клеточное звено первичного иммунного ответа на эритроциты барана (ЭБ) в условиях иммунной недостаточности проводили на основе реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) [4]. Иммунизацию животных всех групп проводили однократно подкожно 1×10^7 ЭБ в объеме 100 мкл. Разрешающую дозу антигена (1×10 ЭБ в объеме 20 мкл) вводили на 5-й день после сенсibilизации под апоневротическую пластинку одной из задних конечностей («опытная» лапа), в контрлатеральную («контрольную» лапу) — физиологический раствор. Учет интенсивности местной реакции проводили через 24 ч, подсчитывая индекс реакции (ИР) ГЗТ по формуле: $ИР = (M_o - M_k) / M_k \times 100 \%$, где M_o — масса «опытной» лапы, M_k — масса «контрольной» лапы.

Изучение влияния РГПУ-147 на гуморальное звено первичного иммунного ответа на ЭБ в условиях иммуносупрессии осуществляли на основе реакции прямой гемагглютинации (РПГА) [4]. Иммунизацию проводили однократно внутривентриально 5×10^8 ЭБ. Постановку РПГА осуществляли на 7-е сутки после иммунизации. Титр антител выражали в среднегеометрических показателях.

Исследование проводилось в соответствии с существующими международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных [6]. Результаты были обработаны статистически с использованием программы «STATGRAPH» с применением *t*-критерия Стьюдента [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведения всех серий эксперимента установлено, что иммунологическая недостаточность у мышей линии СВА (контроль № 2) сопровождается снижением ИР ГЗТ на 80 % ($p_1 < 0,001$), подавлением выработки антиэритроцитарных антител в РПГА более чем в 2 раза ($p_1 < 0,001$) по сравнению с показателями в контрольной группе животных, получавших физиологический раствор (контроль № 1) (рис.).

Однократное внутривентриальное введение РГПУ-147 во всех изучаемых дозах способствует

устранению иммунодепрессивного действия циклофосамида (рис. А). ИР ГЗТ у животных опытных групп достоверно превышает показатели в контрольной группе № 2 (модель иммунодепрессии) более чем в 1,5—2 раза. Применение изучаемого вещества в дозе 146 мг/кг приводит к восстановлению местной реакции иммунитета: ИР ГЗТ достигает фонового показателя в контроле № 1 ($p_1 > 0,05$, $p_2 < 0,05$). РГПУ-147 в дозах 36,5 и 75 мг/кг проявляет иммуностимулирующие свойства в отношении клеточного звена иммунного ответа: индекс РГЗТ достоверно превышает показатели в контроле № 1 более чем на 26 % ($p_1 < 0,05$, $p_2 < 0,001$). Титр антител в РПГА у животных, получавших РГПУ-147 в дозе 75 мг/кг, статистически достоверно превышает показатель в контроле № 2 более чем в 2 раза ($p_2 < 0,001$), достигая значения в группе животных, получавших физиологический раствор (контроль № 1) ($p_1 > 0,05$). У животных, которым вводили РГПУ-147 в дозах 36,5 и 146 мг/кг, титр гемагглютининов достоверно превышает показатели в контроле № 2 в 1,8—2 раза ($p_2 < 0,05$), но сохраняется на уровне ниже, чем в контрольной группе «плацебо».

РГПУ-147 при пероральном введении в течение 14 дней в условиях экспериментальной иммуносупрессии также способствует уменьшению иммунотоксического влияния циклофосамида (рис. Б). При этом индекс РГЗТ в опытной группе достоверно превышает более чем на 80 % показатель клеточной реактивности животных с моделью иммунодепрессии ($p_2 < 0,001$) и достигает значения «нормы» в контроле № 1 ($p_1 > 0,05$). Титр антиэритроцитарных антител под влиянием вещества у иммунодепрессированных животных указывает на устранение циклофосамидной блокады антителообразования: уровень гемагглютининов в опытной группе превышает в 2 раза таковой в контрольной группе № 2 ($p_2 < 0,01$), но фоновых значений показатель гуморальной иммунореактивности не достигает.

Результаты изучения иммунокорректирующих свойств РГПУ-147 в аспекте «время-эффект» свидетельствуют о способности препарата предотвращать и в большей степени ликвидировать нарушения специфического звена иммуногенеза (рис. В). Применение изучаемого вещества с профилактической целью (за 3 дня до индукции иммуносупрессии) способствует увеличению индекса РГЗТ на 25 % ($p_2 < 0,05$) и титра антител в РПГА более чем на 70 % ($p_2 < 0,05$) по сравнению с группой животных с моделью иммуносупрессии (контроль № 2). Введение РГПУ-147 в условиях сформировавшейся иммунной недостаточности (через 3 дня после индукции иммуносупрессии) сопровождается увеличением индекса местной реакции (ГЗТ) на 40 % ($p_2 < 0,001$) и уровня гемагглютининов более чем в 2,5 раза ($p_2 < 0,01$) также по отношению к показателям в контрольной группе животных, получавших циклофосамид.

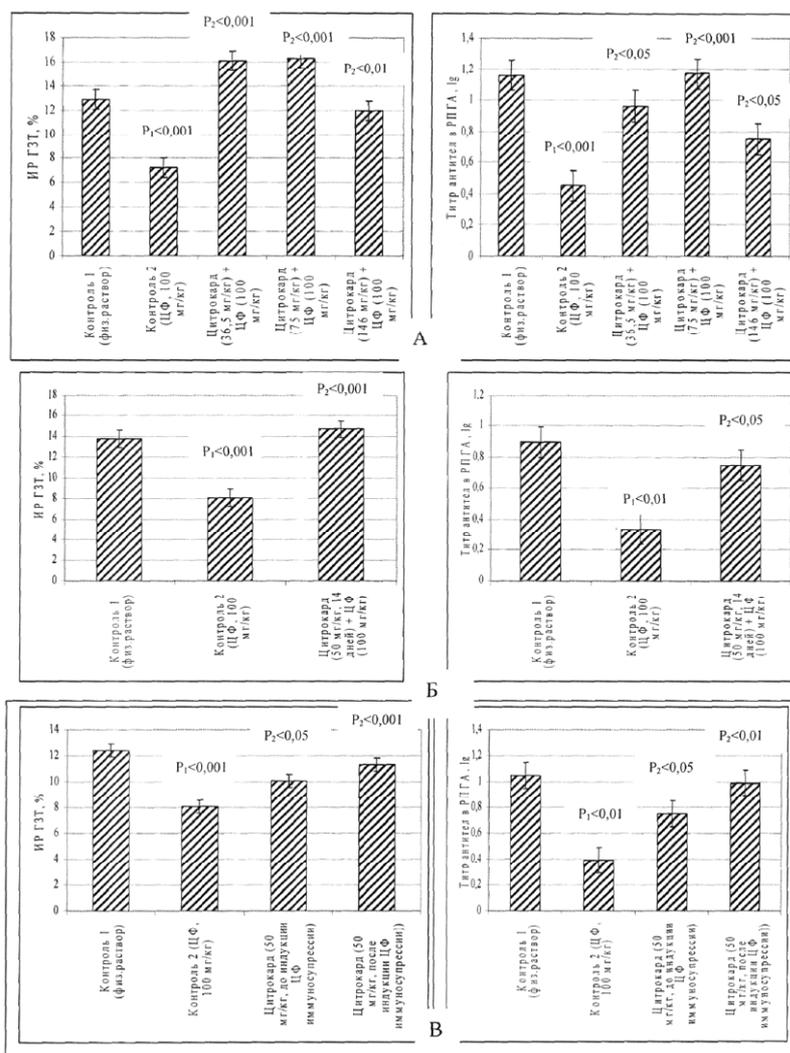


Рис. Влияние РГПУ-147 на формирование РГЗТ и РИГА в условиях циклофосфамидной иммуносупрессии: А — однократное внутрибрюшинное введение в разных дозах; Б — 14-дневное пероральное введение; В — в зависимости от времени введения; p_1 и p_2 — степень достоверности относительно контроля № 1 и № 2 соответственно, ЦФ — циклофосфамид

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенная экспериментальная работа позволяет сделать следующие выводы:

1. Структурный аналог ГАМК — РГПУ-147 — при однократном внут-рибрюшинном (в дозах 36,5; 75 и 146 мг/кг) и 14-дневном пероральном (в дозе 50 мг/кг) применении в условиях экспериментальной иммунодепрессии проявляет иммунокорригирующие свойства.

2. РГПУ-147 способен и предотвращать и ликвидировать нарушения клеточной и гуморальной иммунореактивности, проявляя профилактический и лечебный иммунокорригирующий эффекты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровский Ю. А., Чехонин В. П. Клиническая иммунология пограничных психических расстройств. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — 256 с.

2. Аркадьев В. Г., Макаренко А. Н., Миронюк Ю. М. // Вестник КНУ. Серия: Биол. — 2003. — Т. 39. — С. 51—52.

3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с.

4. Хаитов Р. М., Гуцин И. С., Пинегин Б. В. и др. Методические указания по изучению иммуотропной активности фармакологических веществ / Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М., 2005. — С. 501—514.

5. Патент РФ № 2220131 от 28.02.2002.

6. Directive 2004/10/EC on the principles of GLP.

7. Fleshner M., Laudenslager M. L. // Behav. Cogn. Neurosci. Rev. — 2004. — № 2. — P. 114—130.

Контактная информация:

Самотруева Марина Александровна — к. м. н., доцент кафедры фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии ВолГМУ, e-mail: msl506@mail.ru