

УДК 615.276.015

Т. В. Романова, В. В. Прокина, О. П. Колесникова, В. А. Козлов

ВЛИЯНИЕ ПРОСИДОЛА НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ У МЫШЕЙ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВНовокузнецкий научно-исследовательский химико-фармацевтический институт Минпромнауки РФ
НИИ клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

Обнаружено стимулирующее действие просидола, вводимого orally или внутривенно, на формирование антителообразующих клеток (АОК) в селезенке у мышей линий C57Bl и SWA, оппозитно реагирующих на эритроциты барана (ЭБ). Стимуляция не зависела от дозы и способа введения анальгетика, но усиливалась при его многократных инъекциях. Увеличение стимулирующего действия просидола при длительном введении мышам и усилении просидолом формирования АОК как у слабо-, так и у высокореагирующей на ЭБ линии мышей свидетельствуют о высокой эффективности этого анальгетика как стимулятора Ig M антилитоге-за. В то же время просидол не является стимулятором клеточных иммунных реакций, т. к. отмечено отсутствие его влияния на показатели реакции гиперчувствительности замедленного типа на ЭБ и реакции "трансплантат против хозяина" независимо от генотипа мышей, способа введения и дозы препарата.

Ключевые слова: просидол, иммуномодулирующие свойства

Известно, что травмы, аварии, катастрофы и другие неблагоприятные воздействия на человека ведут к депрессивным изменениям в иммунной системе, которые могут усугубляться применяемыми при критических состояниях обезболивочными средствами. Показано, что морфин оказывает угнетающее действие на клеточный и гуморальный иммунный ответ у экспериментальных животных *in vivo* [2, 4, 5]. Данные о влиянии других анальгетиков на иммунитет практически отсутствуют.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния нового оригинального анальгетика просидола, созданного в Новокузнецком научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте совместно с Институтом химических наук Казахстана [3], на формирование первичного гуморального и клеточного иммунного ответа у экспериментальных животных.

Методика. В работе использовали мышей обоего пола массой 18–20 г линии SWA, вырабатывающих высокий титр антител против эритроцитов барана (ЭБ), и оппозитной линии C57Bl, продуцирующих низкий титр антител к ЭБ, а также гибридов F1(SWA×C57Bl). Контрольные и опытные группы состояли не менее чем из 10 животных.

В качестве антигена применяли ЭБ, которые хранили в растворе Олсвера и перед иммунизацией животных разводили в стерильной среде 199.

Для изучения влияния просидола на первичный гуморальный иммунный ответ растворенную в воде субстанцию препарата вводили мышам однократно внутривенно или подкожно одновременно с внутривенной иммунизацией 5% взвесью ЭБ в объеме 0,5 мл. Внутривенное введение осуществляли через металлический зонд в дозах 3,

10 и 30 мг/кг. Подкожно препарат инъецировали в область спины в дозе 0,3 или 3 мг/кг. Просидол в таких же дозах вводили многократно в желудок в течение 10 дней до инъекции ЭБ. На 4-й день после иммунизации мышей забивали дислокацией шейных позвонков и извлекали селезенку, в которой определяли число антителообразующих клеток (АОК) по количеству зон гемолиза [4].

Влияние просидола на клеточный иммунный ответ оценивали с помощью реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [5] и локальной реакции "трансплантат против хозяина" (РТПХ) [1].

Для формирования ГЗТ мышам иммунизировали внутривенно 2×10^5 ЭБ в объеме 0,5 мл и применяли просидол по вышеуказанной схеме. Для выявления реакции мышам на четвертые сутки в подушечки задних лапок вводили разрешающую дозу 50% взвеси ЭБ в объеме 0,05 мл (опыт). В контрлатеральную лапу инъецировали физиологический раствор (контроль). Местную воспалительную реакцию оценивали через 24 ч по разнице отечности опытной и контрольной лап. Величину отечности измеряли в мм с помощью инженерного микрометра МК-025 и вычисляли индекс реакции по формуле:

$$\text{индекс ГЗТ} = \frac{\text{опыт} - \text{контроль}}{\text{контроль}} \times 100\%$$

Для оценки РТПХ мышам F1(SWA×C57Bl) в подушечку задней лапы вводили взвесь аллогенных клеток лимфатических узлов родительского генотипа (SWA, опыт). В противоположную лапу вводили сингенные клетки лимфатических узлов (F1, контроль). Мыши опытных групп одновременно с введением лимфоидных клеток получа-

ли внутрижелудочно просидола в дозах 3, 10 и 30 мг/кг. На восьмые сутки мышей забивали цервикальной дислокацией, извлекали и взвешивали подкожные лимфатические узлы. По разнице масс опытного и контрольного лимфатического узла вычисляли индекс реакции:

$$\text{индекс РТПХ} = \frac{\text{опыт}}{\text{контроль}}$$

Полученные результаты обрабатывали стандартно подсчетом средних арифметических величин и их ошибок (SEM). Сравнение массивов данных осуществляли с помощью параметрического критерия Стьюдента.

Результаты. При экспериментальном изучении иммуномодулирующих свойств анальгетика центрального действия просидола нами обнаружено его стимулирующее действие на гуморальное зве-

но иммунитета. Оно выражалось в увеличении количества АОК в селезенке у всех иммунизированных ЭБ животных после введения им просидола (табл. 1). Величина стимуляции не зависела от дозы и способа введения анальгетика, поскольку число зон гемолиза не изменялось при увеличении дозы просидола в 10 раз как при оральном, так и при подкожном введениях. Однако ее эффективность была более значительна при курсовом введении препарата, которое приводило к повышению количества АОК у обеих линий в 4–5 раз по сравнению с показателем контрольных животных. Стимулирующее действие просидола было существеннее у мышей линии С57В1, низкоотвечающей на ЭБ. Так, при однократном внутрижелудочном или подкожном введении различных доз просидола в селезенке мышей С57В1 количество АОК увеличилось примерно в 3 раза, а у мышей СВА – в 2 раза

Таблица 1

Влияние просидола на число АОК в селезенке мышей линий С57В1 и СВА, иммунизированных эритроцитами барана (M±m)

Способ введения просидола, доза (мг/кг)	Число АОК на 10 ⁶ спленоцитов		Число АОК в селезенке	
	после однократного введения	после 10-дневного введения	после однократного введения	после 10-дневного введения
В/ж	С57В1, самки			
–	36,7±12,2 (10)	16,4±4,1 (10)	12669±4405 (10)	5354±1286 (10)
3	102,6±26,5* (10)	78,2±15,5* (10)	40278±10547* (10)	32241±6334 * (10)
10	105,0±25,3* (10)	78,4±8,4* (10)	39622±8377 (10)	31266±4286 (10)
В/ж	СВА, самцы			
–	505,6±43,7 (17)	173,7±51,1 (12)	120364±12486 (17)	49309±9779 (12)
3	982,5±151,0* (17)	731,5±51,1* (12)	152050±14555 (17)	137593±24888 * (12)
10	859,7±61,4* (17)	887,7±105,9 * (10)	153770±10136 (17)	144209±20560 * (10)
30	817,4±47,0* (14)	834,4±71,3* (12)	150962±9758 (14)	130862±12525 * (12)
П/к	СВА, самцы			
–	735,5±112,6 (10)	–	93444±12450 (10)	–
0,3	1168,8±119,3* (10)	–	139876±7860 * (10)	–
3	1298,3±119,5* (10)	–	154407±12923 * (10)	–

Примечание. * – достоверность различий по сравнению с контролем, (p<0,05); в скобках – количество обследованных животных; в/ж – внутрижелудочно, п/к – подкожно.

по сравнению с контролем. Выявленное усиление антителообразования в селезенке при использовании минимальных анальгетических доз просидола для мышей (0,3 и 3 мг/кг под кожу и внутрь соответственно) указывает на возможность получения иммуностимулирующего эффекта в клинике при использовании просидола в терапевтических дозах. К тому же, просидол не обладает иммуноотоксическими свойствами, т. к. использование его в субтоксических дозах (10 и 30 мг/кг) не приводило к подавлению иммунного ответа. Более того, сохранение стимулирующего действия просидола при его длительном введении мышам и усиление просидолом формирования АОК как у слабо-, так и у высокореагирующей на ЭБ линии мышей свидетельствуют о высокой эффективности этого анальгетика как стимулятора Ig M антителогенеза.

Усиливая гуморальный иммунный ответ, просидол не изменял показатели клеточного иммунного ответа на чужеродные клетки и на ЭБ. Индекс РТПХ у мышей F1(CBA×C57Bl) в контроле составил 2,01±0,12 и практически оставался на этом же уровне при введении просидола в дозах 3, 10 и 30 мг/кг. Показатели реакции ГЗТ у мышей обеих линий на ЭБ также не изменялись ни при однократном, ни при курсовом введениях анальгетика (табл. 2).

Полученные данные показывают, что просидол не влияет на клеточный иммунный ответ независимо ни от генотипа мышей, ни от способа введения и дозы препарата. В то же время анальгетик значительно стимулирует антителообразование на тимусзависимый антиген. Избирательное иммуностимулирующее действие просидола укладывается в рамки современных представлений о ме-

Таблица 2

Влияние просидола на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей линий C57Bl и CBA, иммунизированных эритроцитами барана (M±m)

Способ введения просидола, доза (мг/кг)	Индекс реакции	
	после однократного введения	после 10-дневного введения
В/ж	C57Bl, самки	
- (контроль)	42,6±2,7 (10)	40,0±2,7 (11)
3	47,5±3,2 (10)	41,0±2,1 (11)
10	41,0±4,2 (10)	41,4±3,2 (11)
30	43,8±3,8 (10)	40,1±3,2 (11)
В/ж	CBA, самцы	
- (контроль)	38,0±3,8 (12)	42,5±3,1 (12)
3	35,9±4,7 (12)	36,6±3,6 (11)
10	35,9±3,2 (12)	44,0±3,4 (12)
30	35,5±3,6 (10)	39,9±3,1 (12)
П/ж	CBA, самцы	
- (контроль)	46,2±2,4 (10)	-
0,3	42,8±2,3 (10)	-
3	47,8±3,7 (10)	-

Примечание. В скобках – количество обследованных животных; в/ж – внутривенно, п/ж – подкожно.

ханизмах иммунорегуляции, согласно которым процессы формирования антител и эффекторов клеточного иммунитета являются альтернативными, т. к. находятся под контролем разных цитокинов, продуцируемых антагонистичными субпопуляциями Т-хелперов (Th1 или Th2).

Заключение. Таким образом, новый оригинальный анальгетик центрального действия – просидол, помимо болеутоляющих свойств, проявляет выраженное иммуностимулирующее действие на гуморальный иммунный ответ. Полученные экспериментальные данные требуют подтверждения в клинике экстремальных состояний, при которых применение просидола, возможно, будет предпочтительнее, чем широко используемого морфина.

EFFECT OF PROSIDOL ON THE IMMUNE RESPONSE IN MICE WITH VARIOUS GENOTYPES

T.V. Romanova, V.V. Prokina, O.P. Kolesnikova, V.A. Kozlov

Prosidol enhanced the primary humoral immune response in vivo but it did not influence on the delayed hypersensitivity reaction to sheep erythrocytes and the graft-versus-host reaction in mice when it was administered subcuta-

neously or *per os* into C57Bl and CBA mice. The enhancement of antibody-producing cell generation did not depend upon the dose and route of prosidol administration. However the stimulating effect was amplified when prosidol was given *per os* repeatedly during 10 days. The use of subtoxic doses of prosidol did not suppress the immune response. Thus prosidol as the immunostimulator can have advantages in comparison with other analgetics in clinic.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методические материалы по экспериментальному (фармакологическому) и клиническому испытанию иммуномодулирующего действия фармакологических средств. М., 1984.
2. Овчаров Р., Генчева Г., Бастутова И. // Известия Державного института контроля лекарственных средств. 1977. № 10. С. 95–101.
3. Патент РФ на изобретение № 2125878 от 2000 г. Анальгетическое средство.
4. Плещинский К.Д., Давыдова Т.В. // Итоги науки и техники. Серия Иммунология. М., 1989. Т. 20. С. 48–120.
5. Bryant H.U., Roudébuch R.E. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1990. Vol. 255. P. 410–414.
6. Cunningham A.J. // Nature. 1962. № 207. P. 1106–1107.
7. Joshikai J., Miake S., Matsumoto T. et al. // Immunology. 1979. Vol. 38. P. 577–583.