

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ОЦЕНКА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ИММУНОТРОПНОГО ЭФФЕКТА ГИМАНТАНА — ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СРЕДСТВА

Г. И. Нежинская¹, Е. А. Вальдман², П. Г. Назаров¹, Н. С. Сапронов¹

Проведен сравнительный анализ пролонгированного иммуностропного эффекта гимантана — противопаркинсонического средства, обладающего многокомпонентным, включающим дофаминпозитивный, механизм действия, и типичного нейролептика галоперидола на функциональную активность В-лимфоцитов у мышей. Установлено, что однократное введение гимантана (10 мг/кг) стимулирует активность В-клеток в течение 21 сут, а галоперидол в дозе 0,25 мг/кг — супрессирует её на протяжении 14 сут. На модели адьювантного артрита показано, что в условиях патологии гимантан при однократном введении в той же дозе в течение 14 сут не оказывает влияния на иммунный ответ и лишь на 21-е сутки вызывает повышение числа антителообразующих клеток. На ранней стадии препарат усиливает проявления артрита, а на поздней стадии снижает их. Установленный выраженный эффект гимантана на активность иммунокомпетентных клеток, возможно, реализуется за счет влияния на центральные механизмы иммунорегуляции, что подтверждается развитием длительного эффекта после однократного введения. Наличие иммуностропной активности у антипаркинсонического средства позволяет предполагать его влияние на иммунологические механизмы, участвующие в патогенезе болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, противопаркинсонические средства, иммуностропная активность, адьювантный артрит, лимфоциты

ВВЕДЕНИЕ

В предыдущих исследованиях нами показано, что новое производное аминоадамантиана — гидрохлорид N-2-(адамантил)гексаметиленмина-гимантан обладает не только широким спектром противопаркинсонического действия [4], но и высокой иммуностропной активностью. Однократное введение гимантана в дозе 10 мг/кг инициирует высокую активность В-клеток и поглотительную активность макрофагов перитонеального экссудата у мышей, подавляет реакцию замедленного типа у морских свинок и усиливает у них реакцию гиперчувствительности немедленного типа на лошадиную сыворотку [9]. Наличие иммуностропной активности у антипаркинсонического средства позволяет предполагать влияние на иммунологические механизмы, участие которых в патогенезе болезни Паркинсона подтверждено рядом работ [7, 11, 14, 15].

Известно, что иммунофармакодинамика фармакологического препарата характеризуется определенным ритмом стимуляции и супрессии Т- и В-лимфоцитов

¹ Отдел нейрофармакологии (руководитель — член-корр. РАМН Н. С. Сапронов) и лаборатория общей иммунологии (руководитель — проф. П. Г. Назаров) НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197376, ул. акад. Павлова, 12.

² Лаборатория психофармакологии (рук. — проф. Т. А. Воронина) ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

[1, 8]. Вместе с тем конкурентные взаимодействия между этими субпопуляциями являются одним из основных механизмов регуляции иммунной системы [12, 13].

В настоящей работе продолжено исследование иммуностропной активности гимантана в условиях экспериментальной аутоиммунной патологии, моделью которой служил адьювантный артрит у крыс [6], а также проведена оценка пролонгированного действия на лимфоциты гимантана и галоперидола.

Галоперидол использовался в качестве препарата сравнения с учетом его противоположного эффекта на активность дофаминовой системы стриатума. Известно, что галоперидол вызывает изменения в иммунном статусе больных [3]. Центральный дофаминергический эффект может проявляться, в частности, в изменении иммунокомпетентности клеток костного мозга [5]. В то же время доказано, что иммуностропные свойства нейротропных препаратов могут реализовываться как за счет центрального эффекта на процессы нейроиммуномодуляции, так и на уровне мембран иммунокомпетентных клеток по принципу рецепторного и нерепепторного влияния [10].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 90 мышках-самцах (СВА · С57BL/6)F1 массой 18–20 г и на 60 белых

крысах-самцах массой 180 – 200 г, полученных из питомника Рапполово РАМН. До проведения опытов животных содержали в течение 2 нед в стационарных условиях вивария на стандартной диете со свободным доступом к воде. Опыты проводили в утреннее время с 9 до 13 ч.

Определение числа антителообразующих клеток (АОК) проводили в селезенке мышей на 5, 14-е и 21-е сутки после иммунизации (по 0,3 мл) эритроцитами барана (ЭБ) в дозе $2 \cdot 10^6$ /животное и одновременного введения в том же объеме гимантана в дозе 10 мг/кг [9] или галоперидола (0,25 мг/кг). Контролем служили мыши, которым одновременно с иммунизацией той же дозой ЭБ вводили 0,14 М раствор NaCl.

Адьювантный артрит индуцировали у крыс путем инокуляции под апоневроз правой задней лапы полного адьюванта Фрейнда (ПАФ), содержащего 1 мг БЦЖ в 1 мл. За 1 ч до индукции артрита крысы получали гимантан в дозе 10 мг/кг. Тяжесть артрита оценивали по индексу реакции отека голеностопных суставов [2]. Контролем служили нелеченые крысы с артритом. За 5 сут до первичного тестирования крыс иммунизировали ЭБ в дозе 108 (0,5 мл) на животное. Тестирование числа АОК проводили через 7, 14 и 21 сут после индукции артрита.

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием параметрического метода Стьюдента.

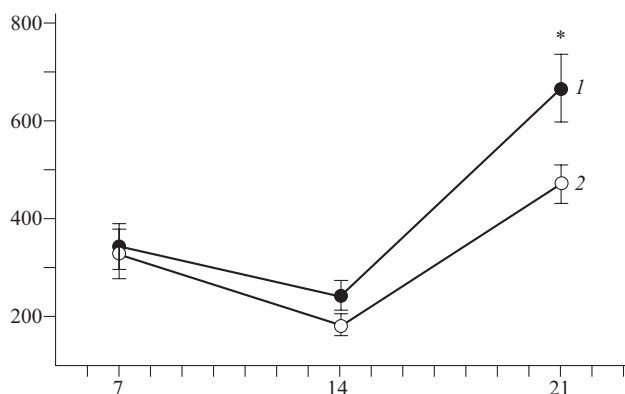
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ действия гимантана на лимфоциты нормальных иммунизированных мышей показал, что препарат иммунологически активен в течение 21 сут. Однократное введение гимантана в терапевтической дозе 10 мг/кг вызывало достоверное повышение числа АОК с максимумом активности на 5-е сутки ($p < 0,001$, $n = 10$), снижение до нормы к 14-м суткам и последующее повышение числа АОК к 21-м суткам. Сравнение пролонгированных эффектов гимантана и галоперидола показало принципиальные различия в направленности их влияния на лимфоциты. Галоперидол в течение 14 сут супрессировал иммунный ответ и снижал число АОК к ЭБ в селезенке животных

Таблица 1. Динамика изменений активности В-лимфоцитов мышей после однократного введения гимантана и галоперидола

Время, сут	Число АОК на 10^6 ядерных клеток селезенки		
	Гимантан, 10 мг/кг	Галоперидол, 0,25 мг/кг	Контроль (физиологический раствор)
5	$1700 \pm 180^{**}$	$360 \pm 22^{**}$	530 ± 20
14	425 ± 20	$290 \pm 20^{**}$	440 ± 20
21	$740 \pm 50^{**}$	$207 \pm 30^*$	100 ± 18

Примечание. Здесь и в табл. 2: отличия с контролем статистически значимы при: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$.



Оценка пролонгированного действия гимантана на число антителообразующих клеток в селезенке крыс с адьювантным артритом.

1 — гимантан, 2 — контроль. По оси абсцисс — срок после введения препарата и иммунизации эритроцитами барана, сут; по оси ординат — число АОК на 10^6 ядерных клеток селезенки.

($p < 0,001$, $n = 10$). Лишь к 21-м суткам активность лимфоцитов возрастала и несколько превышала таковую в контроле ($p < 0,05$, $n = 10$), табл. 1.

Исследование иммуотропной активности гимантана на модели адьювантного артрита у крыс показало, что однократное введение препарата в дозе 10 мг/кг (за 1 ч до индукции артрита) приводит к изменению сроков проявления отека голеностопных суставов крыс по сравнению с контролем. В индуктивной фазе заболевания (7-е сутки) гимантан интенсифицирует развитие отека ($p < 0,01$, $n = 10$), а в фазе разгара (14-е сутки) и в хронической стадии (21-е сутки) достоверно снижает его ($p < 0,01$ и $p < 0,05$, $n = 10$), табл. 2.

Анализ активности антителообразования на протяжении 21 сут показал, что через 7 – 14 сут гимантан не оказывает влияния на активность В-клеток. Она увеличивается лишь на 21-е сутки заболевания по сравнению с таковой у контрольных животных ($p < 0,05$, $n = 10$), рисунок.

Таким образом, оценка пролонгированного действия гимантана в норме и в условиях патологии показала неодинаковый характер его влияния на лимфоциты. В норме, т.е. у интактных мышей, гимантан усиливает антителообразование в ответ на иммунизацию тимус-зависимым антигеном на протяжении 21 сут (срок наблюдения). При этом стимулирующий эффект препарата наблюдается как в индуктивный период первич-

Таблица 2. Влияние гимантана на течение адьювантного артрита у крыс

Срок после инокуляции полного адьюванта Фрейнда, сут	Индекс реакции отека голеностопных суставов, %	
	нелеченые крысы (контроль)	крысы, получившие гимантан (опыт)
7	350 ± 90	$620 \pm 70^*$
14	840 ± 30	$400 \pm 100^{**}$
21	970 ± 100	$650 \pm 100^*$

ного иммунного ответа, зависящий от активности Т-клеток, так и в отдаленные сроки, в продуктивный период, что позволяет предположить, что гимантан повышает активность как Т-клеток, так и В-лимфоцитов и/или антителообразующих плазматических клеток.

В условиях первичного иммунного ответа на эритроциты барана у животных с адьювантным артритом иммуностимулирующее влияние гимантана отсутствует в индуктивном периоде и наблюдается лишь на 21-е сутки болезни. Это может указывать на то, что у животных с аутоиммунным процессом Т-клетки резистентны к действию гимантана, тогда как В-лимфоциты и плазматические клетки обладают такой же чувствительностью к препарату, как и у интактных животных.

Установленный разнонаправленный характер влияния гимантана и галоперидола на активность лимфоцитов может свидетельствовать о вовлеченности в реализацию эффекта процессов центральной нейроиммунотропной модуляции, в частности, связанной с изменением активности дофаминергической системы. Рядом исследований получены данные о синхронности в активации иммунной и нервной систем, позволяющей по данным изменений активности иммунной системы косвенно судить и об эффективности нейротропного действия препарата. [8, 16, 17]. Таким образом, иммунотропная активность гимантана может вносить вклад в реализацию его противопаркинсонического действия. Углубленное изучение вызываемых гимантаном изменений активности иммунокомпетентных клеток может использоваться для прогноза эффективности сочетанного применения с другими лекарственными средствами, а также определения режима дозирования при длительном применении.

ВЫВОДЫ

1. Гимантан и галоперидол оказывают разнонаправленное действие на В-лимфоциты мышей: при одно-

кратном введении гимантан в дозе 10 мг/кг в течение 21 сут усиливает антителообразование, а галоперидол в дозе 0,25 мг/кг в течение 14 сут супрессирует его.

2. На модели адьювантного артрита показано, что в условиях патологии гимантан при однократном введении в той же дозе в течение 14 сут не оказывает влияния на иммунный ответ и лишь на 21-е сутки вызывает повышение числа антителообразующих клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. З. Абышев, Г. И. Нежинская, К. Н. Егоров и др., *Хим. фарм. ж.*, **27**(11), 20 – 22 (1993).
2. Е. К. Алехин, *Иммунол.*, **6**, 24 – 26 (1994).
3. Л. Х. Алликметс, О. Х. Тоомпа, Л. Ю. Тоомаспэ, *Новое в иммунологии и терапии психических заболеваний*, Москва (1994), сс. 103 – 105.
4. Е. А. Вальдман, Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 4, 3 – 7 (1999).
5. Г. В. Идова, *Бюл. СО РАМН*, № 4, 52 – 56 (1994).
6. А. Конфорти, С. Бергани, С. Луссинволи и др., *Биол. медицина*, № 2, 21 – 24 (1998).
7. Г. Н. Крыжановский, С. В. Магаева, С. В. Макаров, *Нейроиммунопатология*, НИИ ОП и ПФ, Москва (1997).
8. Г. И. Нежинская, *Автореф. дис. д-ра. биол. наук*, Москва (1999).
9. Г. И. Нежинская, Е. А. Вальдман, П. Г. Назаров, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(2), 60 – 93 (2001).
10. Л. А. Пирузян, Е. Н. Михайловский, *Известия АН СССР*, № 6, 835 – 838 (1990).
11. К. Bieganowska, A. Czlonkowska, A. Bidzinski, et al., *J. Neuroimmunol.*, **42**(1), 33 – 37 (1993).
12. A. A. Friday, *Res. Immunol.*, **146**(4 – 5), 225 – 233 (1995).
13. A. A. Friday and B. Rocha, *Science*, **277** (5334), 1950 (1997).
14. E. M. Gatto, M. C. Carreras, G. A. Pagrament, et al., *Mov. Disord.*, **11**(3), 261 – 267 (1996).
15. H. Salman, M. Bergman, R. Djaldetti, et al., *Biomed. Pharmacother.*, **53**(3), 146 – 148 (1999).
16. L. A. Segel, *Curr. Sci.*, **73**(11), 929 – 932 (1997).
17. T. Tada, *Annu. Rev. Immunol.*, **15**, 1 – 13 (1997).

Поступила 02.06.02

ESTIMATION OF THE PROLONGED IMMUNOTROPIC EFFECT OF THE NEW POTENTIAL ANTIPARKINSONIAN DRUG HIMANTANE

G. I. Nezhinskaya¹, E. A. Val'dman², P. G. Nazarov¹, and N. S. Sapronov²

¹ Department of Neuropharmacology, Laboratory of General Immunology, Institute of Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences, ul. akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376 Russia;

² Laboratory of Psychopharmacology, Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

A prolonged immunotropic effect of himantane, a new potential antiparkinsonian drug with a multicomponent (including dopaminopositive) mechanism of action, upon the functional activity of splenic B-cells in mice was studied in comparison to the effect of a typical neuroleptic drug haloperidol. A single administration of himantane (10 mg/kg) stimulated the B-cell activity over a period of 21 days, while haloperidol (0.25 mg/kg) suppressed this activity for 14 days after administration. The results of experiments on the adjuvant arthritis (paw edema) model showed that a single administration of himantane in the same dose under these pathological conditions does not influence the immune response (B- cell activity) for 14 days and increases the number of antibody-forming cells only 21 day after injection. Himantane enhanced the model arthritis manifestations in the early stage and reduced them in the late stage. It was established that the pronounced effect of himantane on the activity of immunocompetent cells is probably related to the drug action upon the central mechanisms of immunoregulation (which is consistent with a prolonged effect observed upon a single administration). This immunotropic activity indicates that the drug may affect immunological mechanisms involved in the pathogenesis of Parkinson's disease.