

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ И БЛОКАДЫ СЕРОТОНИНОВЫХ 5-HT_{1A} РЕЦЕПТОРОВ НА ИММУННЫЙ ОТВЕТ У МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА

Г. В. Идова, М. А. Чейдо, С. М. Давыдова¹

Установлено участие серотониновых рецепторов типа 5-HT_{1A} в иммуномодуляции у мышей линии СВА, при использовании селективных препаратов — агониста 5-HT_{1A} рецепторов 8-ОН-ДРАТ и антагониста WAY-100635. Показано, что активация рецепторов 8-ОН-ДРАТ (1 мг/кг) вызывает снижение, а их блокада WAY-100635 (1 мг/кг) — повышение иммунной реакции на пике иммунного ответа к эритроцитам барана. Предварительная блокада 5-HT_{1A} рецепторов WAY-100635 предотвращает иммуносупрессивный эффект 8-ОН-ДРАТ.

Ключевые слова: 5-HT_{1A} рецепторы, WAY-100635, 8-ОН- ДРАТ, иммуномодуляция

ВВЕДЕНИЕ

При фармакологическом анализе с применением веществ, влияющих на различные стороны синтеза и обмена серотонина (5-НТ), установлено, что активация серотонинергической системы оказывает иммуносупрессивный эффект [2, 8, 14]. Вместе с тем существуют лишь единичные исследования о значимости в этом процессе отдельных типов 5-НТ рецепторов, различающихся, как известно [5], по распределению, а также своими характеристиками и функциями. Наибольшим сродством к 5-НТ обладают 5-HT_{1A} рецепторы, обнаруженные в мозге и к настоящему времени наиболее изученные [1, 12, 13]. В то же время о вовлечении 5-HT_{1A} рецепторов в контроль иммунного ответа имеются противоречивые данные, полученные в основном в системе *in vitro* [12, 13], что не дает основания говорить о процессах нейроиммуномодуляции, происходящих в целом организме с участием центральных серотонинергических структур.

Исследования, проведенные нами ранее в системе *in vivo* на мышах линии С57BL/6J и крысах Вистар, показали, что селективный агонист 5-HT_{1A} рецепторов 8-ОН-ДРАТ оказывает иммуносупрессивное действие [3]. Поскольку известно о частичном взаимодействии 8-ОН-ДРАТ не только с 5-HT_{1A}, но и с другими типами рецепторов, в частности, с 5-HT₇ [9], для доказательства участия именно 5-HT_{1A} рецепторов в процессе нейроиммуномодуляции требуется более тщательный анализ с применением наряду с агонистами селективных блокаторов 5-HT_{1A} рецепторов, что и явилось целью настоящей работы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 166 мышах-самцах линии СВА в возрасте 2 – 2,5 месяца массой 18 – 23 г, полученных из питомника Научно-исследовательской лаборатории экспериментального биомоделирования РАМН (Томск, сертификат № 159 – 87). Животных содержали в стандартных условиях вивария при естественном освещении и обычной диете. Опыты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС) и одобренных Комитетом по биомедицинской этике ГУ НИИ физиологии СО РАМН.

Для активации серотонинергической системы использовали применяемый в лабораториях [1, 5, 11] 8-ОН-ДРАТ [8-гидрокси-2-(*di-n*-пропиламино)тетралин] (“Sigma”, США) в дозе 1 мг/кг. Препарат вводили в 0,2 мл дистиллированной воды однократно за 15 мин до иммунизации или двукратно: в день иммунизации (за 30 мин до нее) и на следующий день. Блокаду 5-HT_{1A} рецепторов осуществляли селективным антагонистом WAY-100635 (“Sigma”, США) в дозах 0,5 и 1 мг/кг в объеме 0,2 мл физиологического раствора за 30 мин до иммунизации. Препараты вводили внутривентриально, контрольные животные получали соответствующие объемы растворителя. В случае комбинированного применения препаратов инъекцию WAY-100635 проводили за 15 мин до 8-ОН-ДРАТ.

Мышей иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) ($5 \cdot 10^8$) в хвостовую вену однократно в 0,5 мл физиологического раствора.

Иммунный ответ тестировали на пике его развития по числу бляшкообразующих (IgM-антителообразующих, АОК) [7] и розеткообразующих клеток (РОК) в селезенках мышей [8].

Полученные данные обрабатывали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием статистического пакета STATISTICA for

¹ Лаборатория механизмов нейрохимической модуляции (зав. — Г. В. Идова) ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Новосибирск, 630117, ул. акад. Тимакова, 4.

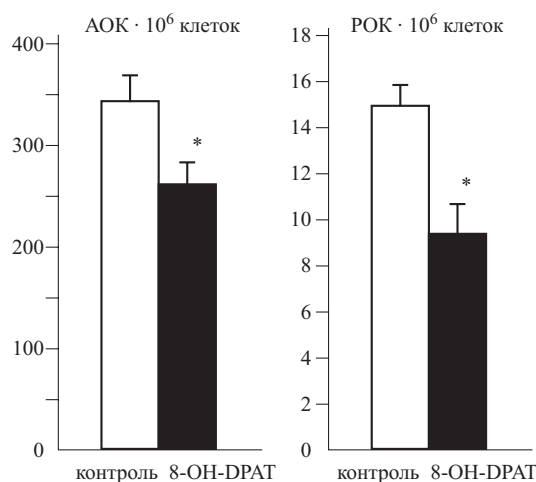


Рис. 1. Иммуный ответ (4-й день) у мышей линии СВА, получавших агонист 5-HT_{1A} рецепторов 8-ОН-ДПАТ (1 мг/кг) однократно за 15 мин до иммунизации.

*— $p < 0,02$ по сравнению с контролем.

Windows ver. 5,1 и парного сравнения по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Активация 5-HT_{1A} рецепторов 8-ОН-ДПАТ до иммунизации приводит к снижению числа АОК и РОК как на 4-й, так и 5-й день после иммунизации. Так, однократное введение 8-ОН-ДПАТ в дозе 1 мг/кг за 15 минут до иммунизации снижает число АОК в 1,4 раза ($F(1,37) = 4,7$; $p < 0,05$) и в 1,6 раз количество РОК ($F(1,1) = 6,18$; $p < 0,05$) (рис. 1). При двухдневном введении препарата в этой же дозе на 5-й день исследования число РОК снизилось в 1,7 раза (до $16,3 \pm 2,4$ против $28,3 \pm 1,8$ в контроле, $F(1,26) = 5,48$; $p < 0,05$).

Таким образом, 8-ОН-ДПАТ значительно снижает число АОК и РОК на пике иммунного ответа. Подобные результаты были получены нами ранее на мышах линии C57BL/6J и на крысах линии Вистар при двукратном введении препарата [3].

Поскольку действие 8-ОН-ДПАТ распространяется не только на 5-HT_{1A}, но и частично на 5-HT₇ рецепторы [9], нами в экспериментах был использован селективный антагонист 5-HT_{1A} рецепторов WAY-100635.

Дозозависимое повышение числа розеткообразующих клеток (РОК) на 4-й день, вызванное блокадой 5-HT_{1A} серотониновых рецепторов WAY-100635

| Серия | Вещество | Число РОК · 10 ³ клеток | p |
|-------|-------------------------|------------------------------------|----------|
| 1 | Контроль (растворитель) | $14,9 \pm 0,9$ ($n = 9$) | |
| 2 | WAY-100635, 0,5 мг/кг | $19,5 \pm 3,2$ ($n = 7$) | $> 0,5$ |
| 3 | WAY-100635, 1 мг/кг | $23,1 \pm 2,4$ ($n = 14$) | $< 0,01$ |

Примечание. Препараты вводили внутривенно за 30 мин до иммунизации однократно у мышей линии СВА. Мышей иммунизировали ЭБ ($5 \cdot 10^8$, внутривенно); n — число животных в группе; p — достоверность различий средних значений по сравнению с контролем.

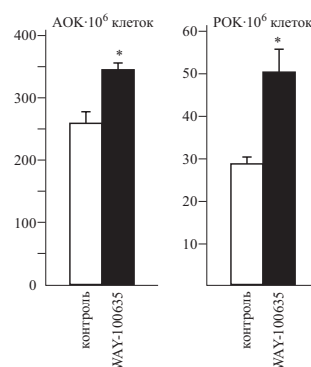


Рис. 2. Иммуностимулирующее действие антагониста 5-HT_{1A} рецепторов WAY-100635 (1 мг/кг) на 5-й день после иммунизации мышей линии СВА.

*— $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем.

Данные литературы свидетельствуют о том, что WAY-100635 имеет высокое сродство к 5-HT_{1A} рецепторам и блокирует эффекты 8-ОН-ДПАТ на различные физиологические и поведенческие параметры организма. Так, WAY-100635 у мышей снимает вызванный 8-ОН-ДПАТ серотонинергический синдром, включающий гипотермию, подавляет повышение уровня АКТГ, индуцированное 8-ОН-ДПАТ [6]. При этом сам блокатор может не оказывать эффекта на поведение животных [10].

Настоящие эксперименты показали, что WAY-100635 вызывает дозозависимое повышение числа РОК на 4-й день исследования (таблица). Если WAY-100635 в дозе 0,5 мг/кг вызывает недостоверное увеличение числа РОК, то при увеличении дозы до 1 мг/кг их количество возрастает в 1,5 раза по сравнению с контролем ($F(1,11) = 7,14$; $p < 0,05$) (таблица). Введение WAY-100635 в этой дозе приводит к повышению иммуногенеза и на 5-й день исследования. При этом, как видно на рис. 2, количество АОК ($F(1/54) = 4,45$; $p < 0,05$) и РОК ($F(1,18) = 16,63$; $p < 0,001$) увеличивается по сравнению с контролем.

Кроме того, обнаружено, что в случае предварительного введения WAY-100635 супрессирующий иммуногенез эффект 8-ОН-ДПАТ снимается, и величина РОК приближается к контрольной (рис. 3). Следовательно, можно заключить, что в регуляции иммунного ответа принимают участие именно 5-HT_{1A} рецепторы.

До сих пор в литературе нет единого мнения о наличии 5-HT_{1A} рецепторов на иммунокомпетентных клетках [4, 16]. Поведенческие и физиологические исследования, проведенные на крысах и мышах, свидетельствуют, что используемая нами доза 1 мг/кг 8-ОН-ДПАТ и WAY-100635 достаточна, соответственно, для активации или блокады центральных 5-HT_{1A} рецепторов [10, 11, 17]. Известно, что 8-ОН-ДПАТ действует как на пресинаптические, так и на постсинаптические 5-HT_{1A} рецепторы [11, 17]. В наших экспериментах агонист в дозе 1 мг/кг вызывает угнетение иммунной реакции, сходное с эффектом, полученным

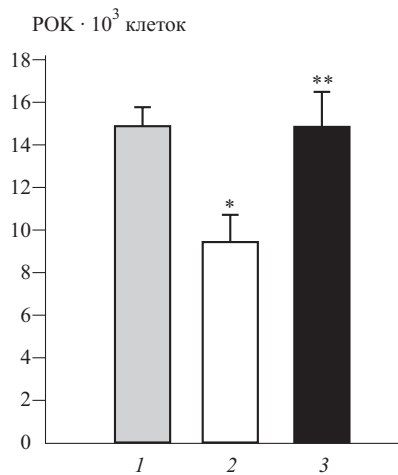


Рис. 3. Предотвращение иммуносупрессивного эффекта 8-ОН-ДПАТ предварительной блокадой этого типа рецепторов WAY-100635 у мышей линии СВА на 40-й день после иммунизации.

1 — контроль; 2 — 8-ОН-ДПАТ 1 мг/кг за 15 мин до иммунизации, 3 — WAY-100635 1 мг/кг за 30 мин до иммунизации + 8-ОН-ДПАТ 1 мг/кг за 15 мин до иммунизации. * — $p < 0,001$ по сравнению с серией 1; ** — $p < 0,02$ с серией 2.

при активации постсинаптических 5-HT рецепторов другими способами [2]. Можно полагать, что иммуносупрессия при обработке мышей 8-ОН-ДПАТ является результатом активации центральных постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов мозга. К тому же WAY-100635 является антагонистом как пресинаптических, так и постсинаптических рецепторов [10, 14], однако высокие дозы WAY-100635 блокируют постсинаптические рецепторы, а низкие дозы оказывают действие на пресинаптические рецепторы [14]. Используемая в нашей работе доза 1 мг/кг достаточна для блокады постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов мозга [14]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в регуляции иммунного ответа принимают участие именно центральные постсинаптические рецепторы 5-HT_{1A} типа.

ВЫВОДЫ

1. Установлено участие 5-HT_{1A} рецепторов в тормозном влиянии серотонинергической системы на иммунный ответ у мышей линии СВА.

ACTIVATION AND BLOCKING OF 5-HT_{1A} RECEPTORS INFLUENCE ON THE IMMUNE RESPONSE IN CBA MICE

G. V. Idova, M. A. Cheido, and S. M. Davydova

Laboratory of Neurochemical Modulation Mechanisms, Institute of Physiology, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Timakova 4, Novosibirsk, 630117 Russia

5-HT_{1A} type serotonin receptors influence the immunomodulating action of the selective preparations 8-OH-DPAT (5-HT_{1A} receptor agonist) and WAY-100635 (5-HT_{1A} receptor antagonist) in CBA mice. The activation of 5HT_{1A} receptors with 8-OH-DPAT (1 mg/kg) decreased, while their blocking with WAY-100635 (1 mg/kg) increased the reaction intensity at the peak of response to immunization with ram erythrocytes. Preliminary blocking of the 5-HT_{1A} receptors with WAY-100635 prevented the inhibiting action of 8-OH-DPAT.

2. Селективный агонист 5-HT_{1A} рецепторов 8-ОН-ДПАТ вызывает угнетение иммунной реакции, блокада 5-HT_{1A} рецепторов селективным антагонистом WAY-100635 приводит к стимуляции иммунного ответа.

3. Предварительная блокада 5-HT_{1A} рецепторов WAY-100635 у мышей линии СВА препятствует проявлению иммуноингибирующего эффекта агониста 8-ОН-ДПАТ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 04 – 04 – 48069).

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Б. Вишневецкая, И. З. Плюснина, Н. К. Попова, *Ж. высш. нервн. деят.*, **51**(6), 704 – 708 (2001).
2. Л. В. Девойно, Р. Ю. Ильюченко, *Нейромедиаторные системы в психонейроиммунотуляции*, ЦЭРИС, Новосибирск (1993).
3. Г. В. Идова, М. А. Чейдо, Е. Н. Жукова, и др., *Бюл. exper. биол.*, **132**(10), 432 – 434 (2001).
4. T. M. Aune, K. M. McGrath, T. Sarr, et al., *J. Immunol.*, **151**(3), 1175 – 1183 (1993).
5. N. M. Barnes and T. A. Sharp, *Neuropharmacology*, **38**, 1083 – 1152 (1999).
6. D. J. Critchey, K. J. Childs, V. C. Maddlefell, and C. T. Dou-rish, *Eur. J. Pharmacology*, **264**, 95 – 97 (1994).
7. A. J. Cunningham, *Nature*, **207**, 1106 – 1107 (1965).
8. L. V. Devoino and G. V. Idova, *Eur. J. Pharmacol.*, **22**, 325 – 331 (1973).
9. R. M. Eglén, J. R. Jasper, D. J. Chang, and J. R. Martin, *Trends Pharmacol. Sci.*, **18**, 104 – 107 (1997).
10. A. Fletcher, E. A. Forster, D. J. Bill, et al., *Behav. Brain. Res.*, **73** (1 – 2), 337 – 353 (1996).
11. E. Gur, E. Dremencov, and D. E. Van, *Eur. J. Pharmacol.*, **436**(1 – 2), 57 – 65 (2002).
12. R. Hellstrand and S. Hermodsson, *Scand. J. Immunol.*, **37**(1), 7 – 18 (1993).
13. K. Iken, S. Chheng, A. Fargin, et al., *Cell Immunol.*, **163**(1), 1 – 9 (1995).
14. T. C. Pellegrino and B. M. Bayer, *Brain. Behav. Imm.*, **16**, 87 – 103 (2002).
15. F. Serres, N. A. Muma, D. K. Raap, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **294**(1), 296 – 301 (2000).
16. J. Stefulj, B. Jernej, and L. Cicin-Sain, et al., *Brain. Behav. Imm.*, **14**(3), (2000).
17. J. Yamada, Y. Sugimoto, and K. Horisaka, *Eur. J. Pharmacol.*, **154**(3), 299 – 304 (1988).

Поступила 15.03.04