

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ЛЕУКОМИЗИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ГУМОРАЛЬНОГО И КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Л. И. Арыстан¹, С. М. Адекенов¹, Х. И. Итжанова¹, А. К. Сариев²

В статье содержатся результаты исследования влияния леукомизина на показатели гуморального и клеточного иммунитета. Установлено, что леукомизин в дозе 10 мг/кг стимулирует Ig M, Ig G-антителообразование.

Ключевые слова: леукомизин, иммуностропная активность, гуморальный иммунитет, клеточный иммунитет

ВВЕДЕНИЕ

Частое и не всегда обоснованное применение антибактериальных средств при хронических инфекционно-воспалительных процессах без назначения иммунокорректирующего лечения приводит к истощению резервных возможностей иммунной системы [1]. Несмотря на интенсивное развитие исследований, направленных на создание новых иммуномодулирующих средств, в широкой клинической практике количество используемых иммуномодуляторов невелико [2, 3]. Особый интерес среди новых веществ растительного происхождения представляют сесквитерпеновые лактоны, так как они обладают поликомпонентной терапевтической активностью. По результатам первичного скрининга сесквитерпеновый лактон леукомизин, выделенный из полыни беловойтой *Artemisia leucodes Schrenk* в АО НПЦ “Фитохимия” наряду с выраженной гипополипидемической активностью обладает способностью стимулировать фагоцитарную активность нейтрофилов. Это послужило основанием для дальнейшего изучения иммуностропной активности леукомизина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение показателей гуморального и клеточного иммунитета проводили согласно методическим указаниям, утвержденным Фармакологическим комитетом в 2005 году, “Методическим указаниям по оценке иммуноотоксического действия фармакологических средств” [4] и “Методическим указаниям по оценке иммуностропной активности фармакологических веществ” [5]. В работе использовали 130 самцов мышей линий СВА и 30 мышей гибридов F1 (СВА · С57BL/6). Животных содержали в стандартных условиях со свободным доступом к корму и воде.

Субстанцию леукомизина разводили в 1 % растворе крахмала и вводили мышам внутрибрюшинно однократно или *per os* трехкратно в дозах 10 и 50 мг/кг. В качестве контроля использовали 1 % раствор крахмала. Влияние леукомизина на гуморальный иммунный ответ изучали, используя реакцию гемагглютинации, поставленную в микротитраторе Такачи (РПГА). Определение антител в РПГА к эритроцитам барана (ЭБ) проводили на мышах линии СВА. В первой серии опытов изучали влияние трехкратного введения леукомизина внутрь на гуморальный иммунный ответ. Для этого животным опытных групп 3 дня вводили леукомизин в дозах 10 и 50 мг/кг. Животным контрольных групп вводили соответствующий объем 1 % раствора крахмала. Затем животных контрольных и опытных групп иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе $5 \cdot 10^7$ клеток. Через 7 дней после иммунизации животных декапитировали и получали сыворотку крови. Для инактивации комплемента сыворотку прогревали при температуре 56 °С в течение 30 мин. Для определения титра гемагглютининов в лунки микропланшет микротитратора микропипетками закапывали физиологический раствор. В первую лунку закапывали такое же количество сыворотки и специальным дозатором, после перемешивания с физиологическим раствором, переносили разведенный образец из одной лунки в другую. Затем в каждую лунку микропипеткой добавляли ЭБ в концентрации $2 \cdot 10^8$ клеток. Планшеты осторожно встряхивали и ставили в термостат на 1,5 – 2 ч при температуре 37 °С. Титр антител (наибольшее разведение сыворотки, при котором наблюдается отчетливая агглютинация ЭБ) выражали величиной $\log_2 T$, где T — титр антител исследуемой сыворотки. Для исследования влияния леукомизина на индуктивную фазу иммунного ответа субстанцию вводили мышам одновременно с тимусзависимым антигеном (эритроциты барана). При изучении действия леукомизина на продуктивную фазу введение субстанции осуществляли на 3-и или 5-е сутки после иммунизации ЭБ при изучении IgM и IgG ответа соответствен-

¹ АО Научно-производственный центр “Фитохимия”, Республика Казахстан, Караганда, 100009, ул. М. Газалиева, 4.

² НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

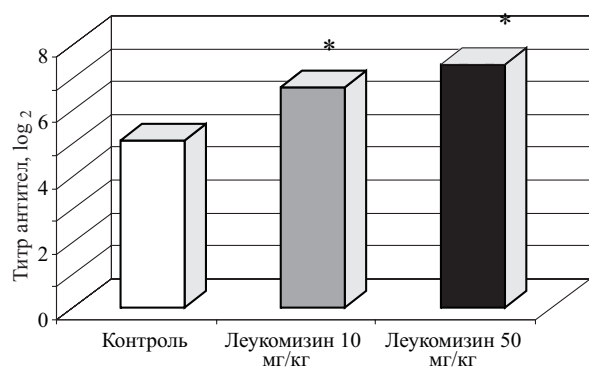


Рис. 1. Влияние леукомина на гуморальный иммунный ответ (РПГА) при трехкратном введении препарата внутрь.

* — различия с контролем при $p < 0,001$.

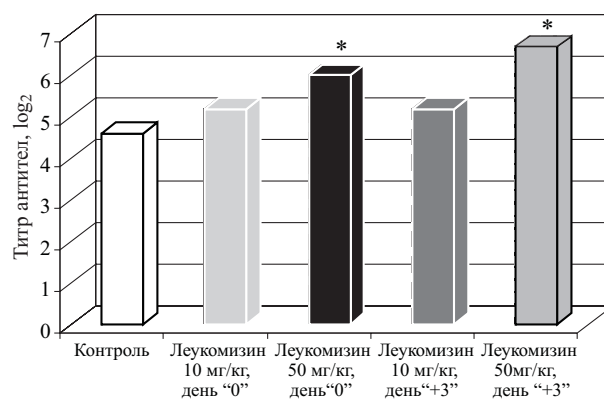


Рис. 2. Влияние леукомина на индуктивную и продуктивную фазы IgM показателей гуморального иммунного ответа мышей линий СВА.

* — различия с контролем при $p < 0,001$.

но. Наличие иммуноглобулина М (IgM) и иммуноглобулина G (IgG) в пробах определяли по методу Heffner и Shuederberg [6]. Влияние леукомина на клеточный иммунный ответ изучали по реакции гиперчувствительности замедленного типа в опытах на мышцах гибридах F1(CBA · C57BL/6).

Подготовку к работе первичных данных и расчеты проводили в среде пакета статистических программ (PSP) Statistica (версия 6.0) для WINDOWS. Статистический анализ данных проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты первой серии опытов (рис. 1) показали, что трехкратное введение леукомина в дозах 10 и 50 мг/кг значительно усиливает антителообразование на 31,4 и 45 %. Во второй серии опытов оценивали действие однократного внутрибрюшинного введения леукомина на индуктивную и продуктивную фазу иммунного ответа с определением IgM и IgG антител.

Результаты второй серии опытов (рис. 2) свидетельствуют, что однократное внутрибрюшинное введение

леукомина в дозе 10 мг/кг в индуктивную и продуктивную фазы формирования иммунного ответа на ЭБ не оказывало значимого действия на IgM-антителообразование. Введение субстанции в дозе 50 мг/кг мышам линии СВА в индуктивную и в продуктивную фазы приводило к достоверному увеличению IgM — антителообразования на 30,4 и 45,7 % соответственно. Изучение действия леукомина на IgG-антителообразование (рис. 3) показало, что однократное внутрибрюшинное введение субстанции в дозе 10 мг/кг в индуктивную фазу формирования иммунного ответа на ЭБ не оказывало значимого действия на IgG-антителообразование.

При исследовании титров антител при введении субстанции леукомина в дозе 10 мг/кг на 5-й день после введения ЭБ выявили выраженную стимуляцию IgG-антителообразования на 51,9 % по сравнению с животными контрольной группы.

Введение субстанции в дозе 50 мг/кг мышам линии СВА в индуктивную и в продуктивную фазы также приводило к достоверному увеличению IgG-антителообразования на 36,5 и 40,4 % соответственно. Обра-

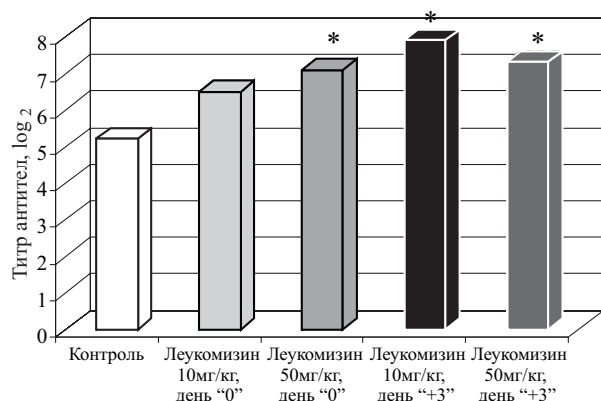


Рис. 3. Влияние леукомина на индуктивную и продуктивную фазы IgG показателей гуморального иммунного ответа мышей линий СВА.

* — различия с контролем при $p < 0,01$.

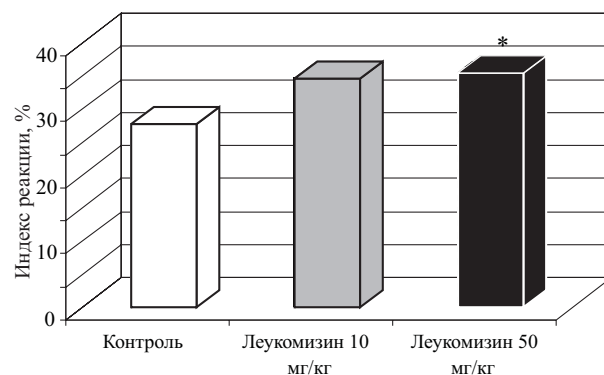


Рис. 4. Влияние леукомина на клеточный иммунный ответ (ГЗТ) при трехкратном введении субстанции внутрь.

* — различия с контролем при $p < 0,05$.

ботка сыворотки крови мышей 2-МЭ не влияла на титры антител, что говорит об их принадлежности к 7S-гамма-глобулинам (IgG).

Результаты изучения клеточного иммунного ответа представлены на рис. 4.

После трехкратного введения леукомизина внутрь в дозах 10 и 50 мг/кг обнаружено дозозависимое увеличение индекса реакции ГЗТ на 25,3 ($p = 0,059$) и 28,2 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

1. Субстанция леукомизина обладает иммуностимулирующей активностью в отношении гуморального и клеточного иммунного ответа. Однократное внутрибрюшинное введение субстанции вызывает увеличение выработки антител к тимусзависимому антигену IgM и IgG классов.

2. Действие леукомизина более выражено при введении в продуктивную фазу, когда активная пролиферация и дифференцировка клеток-предшественников уже “запущена”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. И. Бахов, Ю. Ф. Майчук, А. В. Корнев, *Механизмы защиты организма от вирусных инфекций: нейтрофильные лейкоциты*, Усп. совр. биол., № 1, 23 – 35 (2000).
2. Исследование взаимосвязи “структура — биологическая активность” в ряду растительных веществ и поиск новых фитопрепаратов: отчет о НИР (заключит.) РГКП “ИФХ МОН РК”, № ГР 0103РК00174, Караганда (2005).
3. В. М. Манько, Р. В. Петров, Р. М. Хантов, *Иммуномодуляция: история, тенденция развития, современное состояние и перспективы*, Иммунология, № 3, 132 – 138 (2002).
4. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005), сс. 70 – 86.
5. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005), сс. 501 – 514.
6. Е. К. Алехин, *Иммунотропные свойства лекарственных средств*, Уфа (1993).

Поступила 25.02.09

EFFECT OF LEUCOMISINE ON CELL AND HUMORAL IMMUNITY INDICES

L. I. Arystan¹, S. M. Adekenov¹, Kh. I. Itzhanova¹, and A. K. Sariev²

¹ Phytochemistry Research and Production Center, Institute of Phytochemistry, Ministry of Education and Science of the Kazakhstan Republic, ul. Gazalieva 4, Karaganda, 470032 Kazakhstan

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

The influence of the sesquiterpene lactone leucomisine on the cell and humoral immunity indices has been studied. It is established that the administration of leucomisine in a dose of 10 mg/kg dose stimulates IgM and IgG antibody production.

Key words: Leucomisine, immunotropic activity, humoral immunity, cell immunity