

Е.В.Авдеева
**ВЛИЯНИЕ ОКСИНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ ПРОИЗВОДНЫХ
НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ КРЫС В
УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОЙ ГЕПАТОПАТИИ**

Курский государственный медицинский университет

Резюме. Была исследована иммуномодулирующая активность оксиникотиновой кислоты (ХС-1) и её новых ацильных производных (ХС-2, ХС-3, ХС-4, ХС-9) в условиях острой токсической гепатопатии, вызванной введением ССбф. Установлено, что ОНК и её производные (доза 1 ТД) оказывают иммуномодулирующее действие и их эффективность возрастает в последовательности ХС-1, ХС-2 -> ХС-3 ~» ХС-4 -> ХС-9.

Препарат сравнения - мексидол в дозе 20 мг/кг обладает выраженным иммунокорригирующим действием. Соединение ХС-4 (100 мг/кг) равно по активности мексидолу, соединение ХС-9 (35 мг/кг) превосходит его по активности.

Ключевые слова: оксиникотиновая кислота, гепатопатия, иммунная реактивность.

Актуальность. Диффузные хронические поражения печени, причиной которых являются токсические вещества или вирусные инфекции, часто встречаются в медицинской практике. Нередко такие поражения, к которым, в частности, относится цирроз, приводят к тяжелым последствиям и представляют собой важную медицинскую проблему [13]. Токсические и инфекционные поражения печени характеризуются нарушением иммунологической реактивности организма, которое обусловлено изменением проницаемости мембран гепатоцитов, выходом в сосудистое русло и образованием в нем многочисленных соединений, влияющих на иммунную систему [9].

Для лечения печёночной недостаточности предложено множество методов. Наряду с классическими и широко применяемыми методиками лечения особое значение может иметь применение антиоксидантов, внедрение которых в комплексную терапию патогенетически оправдано. По мнению ряда авторов [4,12], применение антиоксидантов является одним из перспективных путей коррекции нарушений тканевого метаболизма.

Учитывая антиоксидантные и противогипоксические свойства ряда производных оксиникотиновой кислоты (ОНК) [2,3,14], а также данные литературы о выраженном защитном действии мексидола при токсическом повреждении печени [6,10], представлялось интересным изучить иммуномодулирующую активность ОНК и её производных.

Целью настоящей работы являлось изучение иммуномодулирующей активности ОНК и её производных (синтезированы в ВЦ БАВ) в условиях острой токсической гепатопатии.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на 144 крысах Вистар массой 120-180 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все животные содержались в одинаковых условиях, на обычном пищевом режиме. Для получения статистически достоверных результатов группы формировали из 8 животных. В контрольные и опытные группы входили животные одного возраста, полученные из питомника одновременно. Разброс в группах по исходной массе не превышал $\pm 10\%$. Все исследования проводили в одно и то же время суток с 8 до 12 ч с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите

позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Животных выводили из опыта декапитацией под эфирным наркозом.

Острый токсический гепатит воспроизводили путём внутримышечного введения 50% раствора четырёххлористого углерода (СС14) на оливковом масле (3мл/кг) в течение 5 дней с интервалом 24 ч [8].

ОНК и её производные вводили пятикратно (интервал 24ч), внутривентриально в экспериментально подобранных дозах (1ТД): ХС-1- 50 мг/кг, ХС-2 -100 мг/кг, ХС-3 -150 мг/кг, ХС-4 - 200 мг/кг, ХС-9 - 35 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали структурный предшественник оксиникотиновой кислоты – производное оксипиридина, с выраженными антиоксидантными свойствами – мексидол, который вводили внутривентриально, в дозе 30 мг/кг, по той же схеме, что и исследуемые вещества.

Развитие гуморального иммунного ответа (ГИО) и реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) индуцировали внутривентриальным введением эритроцитов барана (ЭБ). Для оценки выраженности ГИО в селезёнке определяли количество антител [11] и розеткообразующих клеток [5] через 5 суток после иммунизации (2×10^9 ЭБ). При оценке выраженности ГЗТ, через 4 суток после внутривентриальной сенсibilизации ЭБ (108 клеток), в подушечку задней конечности вводили разрешающую дозу антигена (106 ЭБ). Спустя 24 ч определяли разницу массы и количества кариоцитов в регионарном и контралатеральном лимфатических узлах [15].

Математический анализ полученных данных проводили с помощью программы «Statistica 6.0 StatSoft, USA». Первоначально, генерировался отчет описательной статистики, содержащий информацию о среднем числе, стандартной ошибке, стандартном отклонении, дисперсии выборки. Затем оценивалась достоверность различий по критериям Стьюдента, Вилкоксона-Манна и Уитни.

Полученные результаты и их обсуждение. При изучении иммуномодулирующей активности ОНК и её производных, в условиях острого токсического поражения печени, установлено, что внутримышечное введение крысам в течение 5 дней оливкового масла не влияет на формирование ГИО, индуцированного ЭБ (рис.1).

Введение четырёххлористого углерода повышает иммунологическую реактивность на ЭБ, что проявляется увеличением в селезёнке отравленных крыс числа иммунных АОК в 3,2 раза, РОК в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой животных.

Введение оксиникотиновой кислоты и её производного под лабораторным шифром ХС-2 не оказывает влияния на иммунологическую реактивность крыс отравленных СС14. Введение соединения ХС-3 достоверно снижает количество иммунных АОК в 1,5 раза по сравнению с группой животных получавших СС14. Также наблюдается тенденция уменьшения количества иммунных РОК под воздействием данного соединения (рис.1).

Введение соединения ХС-4 как и препарата сравнения – мексидола, оказывает выраженное влияние на иммунную реактивность. Количество иммунных АОК и РОК в экспериментах с введением мексидола и ХС-4 было достоверно ($p < 0,05$) ниже данных показателей полученных в эксперименте с введением СС14.

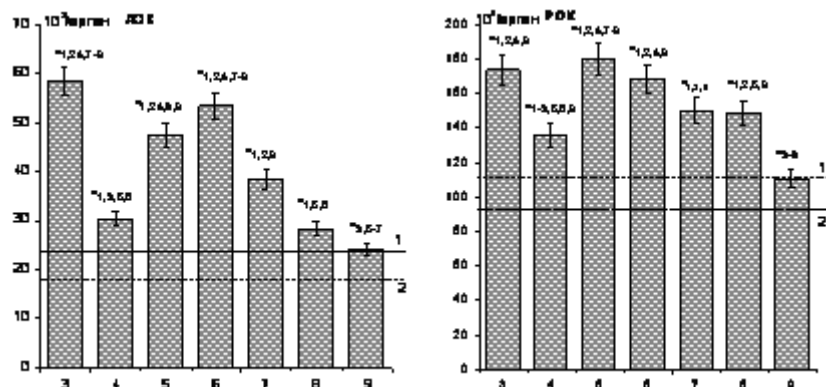


Рисунок 1. Влияние ОНК и ее производных на развитие ГИО индуцированного ЭБ в условиях острого токсического поражения печени.

*Примечание: 1- иммунизация ЭБ; 2- введение оливкового масла; 3- введение СС14; 4- введение СС14 и мексидола; 5- введение СС14 и ХС-1; 6- введение СС14 и ХС-2; 7- введение СС14 и ХС-3; 8- введение СС14 и ХС-4; 9- введение СС14 и ХС-9; * - $p < 0,05$, цифры рядом со * указывают по отношению к какой группе различия достоверны.*

Особого внимания заслуживают эксперименты с применением соединения ХС-9. При его внутрибрюшинном введении, в течение 5 суток в дозе 35 мг/кг, показатели количества АОК и РОК оставались на уровне контрольных данных, не смотря на введение СС14. Иммуномодулирующая активность соединения ХС-9 превосходит таковую у мексидола.

Таким образом, иммунологическая реактивность животных на ЭБ существенно повышается в период острого токсического поражения печени СС14. При введении соединения ХС-3 наблюдается тенденция уменьшения количества иммунных АОК и РОК. Внутрибрюшинное введение соединения ХС-4 и мексидола достоверно снижает количества АОК и РОК по сравнению с данными, полученными в группе животных с введением СС14. Наибольший иммунокорректирующий эффект проявляет соединение ХС-9. Введение этого соединения на фоне интоксикации СС14 полностью предотвращает повышение иммунологической реактивности на ЭБ.

Было изучено влияние ОНК и её производных на развитие реакции ГЗТ, индуцированной ЭБ (рис.2). Исследование развития ГЗТ выявило аналогичную с ГИО динамику изменения показателей. Установлено, что максимальным корригирующим влиянием на показатели РМЛ и РКЛ, как и при токсическом поражении печени, обладает соединение под лабораторным шифром ХС-9. Внутрибрюшинное введение данного соединения в дозе 35 мг/кг оказывает выраженное гепатопротекторное действие, показатели РМЛ и РКЛ в данных сериях экспериментов не отличаются от контрольных данных.

Препарат сравнения – мексидол и соединение ХС-4, проявляют одинаковую гепатопротекторную активность. В серии экспериментов с введением СС14 применение мексидола и ХС-4 достоверно уменьшает показатели РМЛ в 1,8 и 1,5 раза соответственно, по сравнению с группой животных получавших только СС14 (рис.2). ОНК (ХС-1) и другие её производные (ХС-2, ХС-3) достоверным иммуномодулирующим действием не обладают.

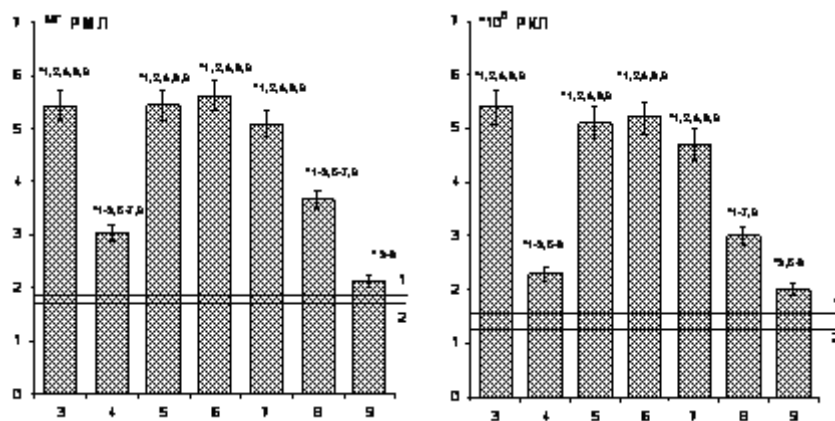


Рисунок 2. Влияние ОНК и ее производных на развитие ГЗТ индуцированной ЭБ в условиях острого токсического поражения печени.

*Примечание: 1- иммунизация ЭБ; 2- введение оливкового масла; 3- введение СС14; 4- введение СС14 и мексидола; 5- введение СС14 и ХС-1; 6- введение СС14 и ХС-2; 7- введение СС14 и ХС-3; 8- введение СС14 и ХС-4; 9- введение СС14 и ХС-9; * - $p < 0,05$, цифры рядом со * указывают по отношению к какой группе различия достоверны.*

Учитывая, что формирование иммунного ответа в норме и при патологии зависит от наличия и активности гуморальных факторов, выделяемых клетками селезенки в ответ на антигенный стимул (14), можно предположить, что иммуномодулирующий эффект производных ОНК связан с влиянием на выработку гуморальных факторов как иммунocyтaми, так и клетками различных органов и тканей (в первую очередь, гепатоцитами). Наиболее активно этот процесс происходит при измененной иммунной реактивности в условиях патологии, характеризующейся нарушением процессов перекисного окисления липидов и, как следствие, нарушением целостности клеточных мембран. Иммуномодулирующее действие производных ОНК также может быть обусловлено их антиоксидантным и стабилизирующим влиянием на мембраны гепатоцитов. В наших предыдущих исследованиях (15) было показано, что производные ОНК, как и препарат сравнения – мексидол, ингибируют процессы ПОЛ, повышают антиоксидантную защиту в печени, нормализуют активность ферментов-маркеров повреждения гепатоцитов.

Выводы.

1. Острая токсическая гепатопатия при введении СС14 характеризуется повышением иммунологической реактивности на ЭБ. ОНК и её производные (доза 1 ТД) в этих условиях оказывают иммуномодулирующее действие и их эффективность возрастает в последовательности ХС-1, ХС-2 → ХС-3 → ХС-4 → ХС-9.

2. Препарат сравнения – мексидол в дозе 20 мг/кг обладает выраженным иммунокорректирующим действием. Соединение ХС-4 (100 мг/кг) равно по активности мексидолу, соединение ХС-9 (35 мг/кг) превосходит его по активности.

Литература

1. Авдеева Е.В., Дьячук Г.И., Конопля А.И., Сернов Л.Н. Влияние оксиникотиновой кислоты и её производных на процессы перекисного окисления липидов в условиях токсического поражения печени// «Вестник СПбГМА им. И.И.Мечникова» 2005.- №4.- С.102-104.
2. Аверкиев В.Л., Тарасенко В.С., Латышева Т.В. и др.Изменение некоторых иммунологических показателей при панкреонекрозе и их коррекция // Хирургия. – 2003. – №5. – С.31-34.

3. Воронина Т.А., Смирнов Л.Д., Дюмаев К.М. // Тр. нац. науч. - практ. конф. с междунар. участием "Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека".- Смоленск, 2001.- С. 191-193.
4. Демин, Д.Б. Влияние регионарной лимфотропной и антиоксидантной терапии на экскрецию продуктов липопероксидации желчью при панкреонекрозе / Д.Б. Демин, В.С. Тарасенко, Д.В. Волков // IX Всерос. съезд хирургов (20-22 сентября 2000 г., г. Волгоград). – Волгоград, 2000. – С.139;
5. Зауэр Х. // Иммунологические методы / Под ред. Г.Фримеля; Пер.с нем.- М.: Медицина, 1987. - С.57-72.
6. Иванов Ю.В., Матюшин И.А., Мишнев О.Д. и др. Действие мексидола при токсическом поражении печени.//Вестник новых медицинских технологий.-2003.-Т.Х, №3.-С.68-70.
7. Кашкин К.Н. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунологическая активность // Клинич. лаб. диагностика. - 1998. - №11. - С. 21-32.
8. Конопля, А.И. Эндогенные иммуномодуляторы как фактор сохранения гомеостаза при патологии печени: Дис. ...д-ра мед. наук. – Киев, 1989. – 312 с.
9. Кулько И.Н. Изучение иммуномодулирующих и репаративных свойств эспалипона. Автореф. дис... канд. мед. наук.- Курск, 2004.-24 с.
10. Лунева Н.В. Иммуномодулирующее, антиоксидантное и гепатопротекторное действие мексидола и персульфата натрия в условиях ишемии печени: Автореф. дисс... канд. мед. наук.- Курск, 1998.-26с. П.Мальберг К., Зигель Э. // Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля; Пер.с нем. - М.: Медицина, 1987.- С.57-72.
11. Мишнев О.Д., Щеголев А.И. Печень при эндотоксикозах. - М.,-2001.-233с.
- 13 Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Клеточные механизмы регенерации циррозной печени крыс.//Цитология.- 1996.- Т.38, №11.- С. 1158-1170.
14. Смирнов Л.Д. Антиоксиданты гетероароматического ряда. Структура, активность, медицинское применение // Сбор, тезисов 2-го Съезда Росс. науч. общ. фармакологов. - М., 2003.- С.171.
15. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В. и др. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. - М.: Промедэк, 1993. - 320 с.

Abstract

E.V. Avdeeva

INFLUENCE OF OXINICOTIN ACID AND ITS DERIVATIVES ON THE STATE OF IMMUNE REACTIVITY OF RATS IN THE CONDITIONS OF TOXIC HEPATOPATHY

Kursk State Medical University

Summary. The immunomodulating activity of oxynicotinic acid (XC-1) and its new acyl derivatives (XC-2, XC-3, XC-4, XC-9) was studied under conditions of acute toxic hepatopathy caused by the introduction of CCl. It was established that ONK and its derivatives dose of 1 TD) exert an immunomodulatory effect and their effectiveness increases in the sequence XC-1, XC-2 -> XC-3 ~ »XC-4 -» XC-9.

The drug of comparison - mexidol in a dose of 20 mg / kg has a pronounced immunocorrecting action. The compound XC-4 (100 mg / kg) is equal to the activity of mexidol, the compound XC-9 (35 mg / kg) is superior in activity.

Key words: oxynicotinic acid, hepatopathy, immune reactivity.

References:

1. Avdeeva EV, Dyachuk GI, Konoplya AI, Sernov LN Influence of oxynicotinic acid and its derivatives on the processes of lipid peroxidation in conditions of toxic damage to the liver // Vestnik SPbGMA im. I. I. Mechnikov "2005.- №4.-P.102-104.
2. Averkiev VL, Tarasenko VS, Latysheva T.V. et al. Changes in some immunological indices in pancreatic necrosis and their correction // Surgery. - 2003. - №5. - P.31-34.

3. Voronina TA, Smirnov LD, Dumayev KM // Tr. nat. sci. - Pract. Conf. with intern. participation "Free radicals, antioxidants and human diseases" .- Smolensk, 2001.- P. 191-193.
4. Demin, D.B. Influence of regional lymphotropic and antioxidant therapy on the excretion of lipid peroxidation products in bile in pancreatonecrosis / D.B. Demin, V.S. Tarasenko, D.V. Volkov // IX Vseros. congress of surgeons (September 20-22, 2000, Volgograd). - Volgograd, 2000. - P.139;
5. Sauer X. // Immunological methods / Ed. G.Fremel; Пер.с нем.- М .: Медицина, 1987. - С.57-72.
6. Ivanov Yu.V., Matyushin IA, Mishnev O.D. and others. The action of mexidol in toxic liver damage. // Bulletin of new medical technologies.-2003.-Т.Х., No. 3.-P.68-70.
7. Kashkin K.N. Cytokines of the immune system: basic properties and immunological activity // Klinich. lab. diagnostics. - 1998. - № 11. - P. 21-32.
8. Cannabis, A.I. Endogenous immunomodulators as the factor of preservation of a homeostasis at a pathology of a liver: Dis kand. ... Dr. honey. sciences. - Kiev, 1989. - 312 p.
9. Kulko I.N. The study of immunomodulatory and reparative properties of espalipon. Author's abstract. dis ... cand. honey. - Kursk, 2004.-24 p.
10. Luneva N.V. Immunomodulating, antioxidant and hepatoprotective action of mexidol and sodium persulfate in conditions of liver ischemia: Abstract of the dissertation. diss ... cand. honey. Kursk, 1998.-26с. P. Malberg K., Siegel E. // Immunological methods / Ed. G.
11. Frimpel; Translated from German. - М .: Medicine, 1987. - P.57-72.
12. Mishnev OD, Schegolev AI Liver with endotoxiosis. - М., - 2001.-233s.
- 13 Sakuta GA, Kudryavtsev BN Cellular mechanisms of regeneration of cirrhotic liver of rats. // Cytology. - 1996.- Т.38, No. 11.- P. 1158-1170.
14. Smirnov L.D. Antioxidants of the heteroaromatic series. Structure, activity, medical application // Collection, theses of the 2 nd Congress of the Ross. sci. Society. pharmacologists. - М., 2003.- p.171.
15. Fedoseeva VN, Poryadin GV, Kovalchuk L.V. and others. A guide to immunological and allergological methods in hygiene research. - Moscow: Promedek, 1993. - 320 p.