

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОМОДЕЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТОВ КОРТЕКСИН И НООТРОПИЛ

В.Н. Цыган

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Представлены результаты сравнительного исследования влияния курсового внутрибрюшинного введения мышам препаратов Кортексин и пирацетам (Ноотропил) на гуморальное, клеточное звенья иммунной системы и механизмы врожденного иммунитета. Показано, что пирацетам не обладает иммуномодулирующим действием, а Кортексин при 10-дневном курсовом введении стимулирует Т-клеточный ответ в реакции гиперчувствительности замедленного типа и активирует фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов.

Ключевые слова: иммунитет, нервная система, иммуномодуляция, Кортексин, пирацетам

The article presents the results of a comparative evaluation of the course intraperitoneal administration of Cortexin and piracetam (Nootropil) on humoral, cellular components of the immune system and the mechanisms of innate immunity in mice. It is shown that piracetam has no immunomodulatory effect, and Cortexin administrated for 10 days stimulates T-cell response in delayed-type hypersensitivity reaction and activates the phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes.

Key words: immunity, nervous system, immunomodulation, Cortexin, piracetam

Введение

Взаимодействие нервной и иммунной систем необходимо для обеспечения физиологической иммунорегуляции. Нервная система не вмешивается в специфическую составляющую иммунного ответа, но способна модулировать его интенсивность, кинетику и направленность. Биологически активные вещества, выделяющиеся при развитии иммунного ответа, могут влиять на тонус вегетативной и центральной нервной системы – ЦНС [1, 2, 5]. В связи с этим актуален поиск препаратов, обладающих как нейромодулирующей активностью, так и иммуномодулирующими свойствами, или поиск иммуотропных свойств у уже известных нейротропных препаратов [3].

На сегодняшний день известно много нейроактивных препаратов. Среди нейропротекторных средств особый интерес вызывает препарат Кортексин, который представляет собой лиофилизат из коры головного мозга крупного рогатого скота, содержащий низкомолекулярные активные нейропептиды. Кортексин обладает многофункциональным действием на головной мозг, оказывая нейропротективное, нейромодуляционное и нейротрофическое влияние. Препарат оптимизирует энергетический метаболизм клеток мозга, улучшает вну-

триклеточный синтез белка. Другим нейроактивным препаратом, схожим по влиянию на нервную систему, служит пирацетам (Ноотропил). Он оказывает полифункциональное влияние на ЦНС: улучшает процессы метаболизма нейронов, изменяет скорости распространения возбуждения; улучшение микроциркуляции.

Целью исследования стали сравнительная оценка и анализ иммуномодулирующего действия Кортексина и пирацетама на фагоцитарные показатели, гуморальное и Т-клеточное звенья иммунной системы. Для этого было необходимо изучить влияние препаратов Кортексин и пирацетам на гуморальный и клеточный иммунные ответы, а также на фагоцитарную активность полиморфноядерных (нейтрофильных) гранулоцитов при курсовом (10-дневном) введении.

Материал и методы

Исследование выполнено на 310 мышах-самцах линии Balb/c массой 18–24 г, разделенных на группы по 10 особей в каждой, содержавшихся в стандартных условиях вивария. Все эксперименты проведены в соответствии с Приказом МЗ и СР РФ № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики», от 23.08.2010, ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежа-

щей лабораторной практики». Для проведения экспериментов были сформированы контрольные и опытные группы животных, находившихся в идентичных условиях содержания. Исследуемые препараты вводили в следующих дозировках: Кортексин растворяли в дистиллированной воде, вводили внутрибрюшинно по 1 мл раствора в концентрации 25 мкг/мл из расчета 1 мг/кг ежедневно в течение 10 дней; пирацетам – 25 мкл раствора в концентрации 200 мг/мл доводили дистиллированной водой до объема 1 мл и вводили внутрибрюшинно из расчета 200 мг/кг ежедневно в течение 10 дней.

Лабораторные животные были разделены на группы следующим образом: контрольная (интактная) группа 1. Животные этой группы получали дистиллированную воду в объеме 1 мл внутрибрюшинно соответственно массе и не подвергались иммунизации антигеном – эритроцитами барана (ЭБ). Контрольная группа 2. Животные этой группы получали 1 мл дистиллированной воды внутрибрюшинно соответственно массе и подвергались иммунизации антигеном ЭБ. Опытная группа 3. Указанная группа мышей получала раствор пирацетама. Для этого 25 мкл раствора концентрации 200 мг/мл доводили дистиллированной водой до объема 1 мл, вводили внутрибрю-

Таблица 1. Титр антиэритроцитарных антител при введении пирецетама

Группа	Вводимое вещество, доза	Титр антител (среднегеометрическое значение, 25–75%)
Интакт	Дистиллированная вода	5,5–5
Контроль	Физраствор	46,4–80
Пирецетам	200 мг/кг	49,4–80

Таблица 2. Титр антиэритроцитарных антител при курсовом введении препарата Кортексин

Группы	Вводимое вещество, доза	Титр антител (среднегеометрическое значение, 25–75%)
Интакт	Дистиллированная вода	5,5–5
Контроль	Дистиллированная вода	70,4–160
Кортексин	1 мг/кг	73,6–80

Таблица 3. Индекс воспаления РГЗТ при введении пирецетама

Группы	Вводимое вещество, доза	Индекс реакции, % (M±m)
Интакт	Дистиллированная вода	2,4±0,69
Контроль	Дистиллированная вода	12,1±2,21
Пирецетам	200 мг/кг	16,0±2,39

шинно из расчета 200 мг/кг ежедневно в течение 10 дней и иммунизировали антигеном ЭБ. Опытная группа 4. Указанная группа мышей получала раствор препарата Кортексин, который растворяли в дистиллированной воде и вводили внутривенно 1 мл раствора в концентрации 25 мкг/мл из расчета 1 мг/кг ежедневно в течение 10 дней и иммунизировали антигеном ЭБ. Значимость различий между группами оценивалась с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни.

Оценку влияния исследуемых препаратов на гуморальный иммунный ответ изучали путем определения титра антител при иммунизации животных ЭБ в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА). Иммунизацию мышей проводили однократно внутривенно в дозе 5×10^7 ЭБ в объеме 250 мкл физиологического раствора через час после введения препаратов Кортексин или пирецетам. Кровь для получения сыворотки брали через 7 дней (на 8-е сутки) после иммунизации животных ЭБ. Титр антител выражали в среднегеометрических показателях.

Влияние на Т-клеточный иммунный ответ изучали на модели реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ). При постановке РГЗТ для сенсibilизации мышам однократно подкожно в межлопаточную область вводили 2×10^8 ЭБ в объеме 100 мкл физиологического раствора через час после введения препаратов Кортексин и пирецетам. Разрешающую дозу антигена 1×10^8 ЭБ в объеме 20 мкл физиологического раствора вводили на 5-й день после сенсibilизации под апоневротическую пластинку одной из задних конечностей («опытная» лапа). В контрлатеральную лапу в качестве контроля вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме («контрольная» лапа). Учет интенсивности воспалительной реакции осуществлен через 24 часа после введения разрешающей дозы антигена путем подсчета индекса воспаления РГЗТ.

Для оценки влияния исследуемых препаратов на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови использовали мышей через 24 часа после введения последней

исследуемой дозы исследуемого препарата. Для этого животных выводили из эксперимента и забирали венозную кровь, после этого 50 мкл гепаринизированной крови смешивали с 50 мкл 1%-ной суспензии латекса в 96-луночном круглодонном планшете и инкубировали 2 часа при $t + 37^\circ\text{C}$, периодически встряхивая пробы. Далее делали гематологические мазки, фиксировали в фиксаторе Мая–Грюнвальда 2–3 минуты и окрашивали в краске Романовского 30–40 минут. Затем просматривали под микроскопом с иммерсией (15×100). На основании полученных данных рассчитывали следующие показатели: ФП – фагоцитарный показатель, процент клеток, вступивших в фагоцитоз (процент активных нейтрофилов); ФЧ – фагоцитарное число, среднее число поглощенных частиц латекса активными нейтрофилами [4].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что пирецетам в исследуемых дозах не стимулирует выработку антиэритроцитарных антител. Так, введение вещества в дозе 200 мг/кг приводило к

Таблица 4. Индекс воспаления РГЗТ при курсовом введении препарата Кортексин

Группы	Вводимое вещество, доза	Индекс реакции, % (M±m)
Интакт	Физраствор	-0,7±0,61
Контроль	Физраствор	28,2±3,50
Кортексин	1 мг/кг	43,0±5,39*

* – статистические значимые различия по сравнению с группой животных. Контроль $p < 0,05$.

Таблица 5. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при введении пирецетама

Группы	Вводимое вещество, доза	Фагоцитарный показатель (M±m)	Фагоцитарное число (M±m)
Контроль	Дистиллированная вода	12,3±1,39	1,8±0,14
Пирецетам	200 мг/кг	13,9±1,06	1,8±0,09

выработке антиэритроцитарных антител до среднегеометрического титра 1:49, тогда как в группе контроля титр составил 1:46 (табл. 1).

Изучение влияния курсового введения препарата Кортексин на гуморальный иммунитет показало, что через 7 суток после проведения внутрибрюшинной антигенной стимуляции мышей ЭБ титр гемоглобинунов у животных, получавших в течение 10 дней Кортексин в дозе 1 мг/кг, составил 1:73. Иммунизация мышей контрольной группы сопровождалась увеличением титра антиэритроцитарных антител до уровня 1:70 (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии влияния препарата в исследуемых дозах на гуморальный иммунитет.

Оценка результатов влияния препарата пираретам на клеточный иммунный ответ показала незначительное стимулирующее влияние на уровень Т-клеточного иммунного ответа в дозе 200 мг/кг. Так, индекс воспаления в РГЗТ при введении в дозе 200 мг/кг составил 16,0% (в группе контроля — 12,1%) (табл. 3).

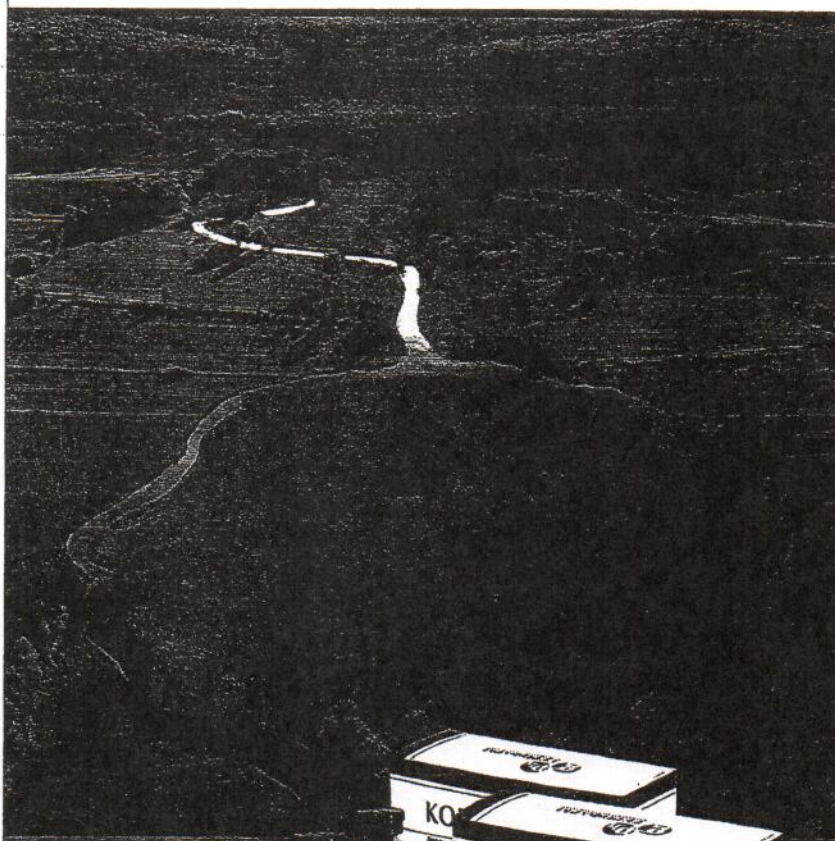
Введение разрешающей дозы антигена животным опытных групп после введения препарата Кортексин в дозе 1 мг/кг способствовало формированию РГЗТ высокого уровня: индекс воспаления составил 43,0%, что позволяет сделать вывод о стимулирующем влиянии препарата на клеточный иммунный ответ (табл. 4).

Изучение влияния введения пираретама на показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови показало, что препарат в исследуемых дозах не влияет на механизмы врожденного иммунного ответа. Так, введение вещества не приводило к увеличению числа активных нейтрофилов и не оказывало стимулирующего влияния на количество поглощенных ими частиц латекса (табл. 5).

Курсовое введение препарата Кортексин оказывало стимулирующий эффект на фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов, наблюдали увеличение числа активно фагоцитирующих клеток и усиление процессов фагоцитоза каждым фагоцитом (табл. 6).

КОРТЕКСИН®

Работу мозга —
в здоровое русло



Показания к применению

- нарушения мозгового кровообращения
- черепно-мозговая травма и ее последствия
- энцефалопатии различного генеза
- когнитивные нарушения (расстройства памяти и мышления)
- острые и хронические энцефалиты и энцефаломиелиты
- эпилепсия
- астенические состояния (надсегментарные вегетативные расстройства)
- снижение способности к обучению
- задержка психомоторного и речевого развития у детей
- различные формы детского церебрального паралича.

Телефон горячей линии:

8-800-333-43-76

(звонок по России бесплатный)

www.geropharm.ru

gph
ГЕРОФАРМ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ

Реклама
Рис. номер П/С-003190/09 от 27.04.2009

Таблица 6. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при курсовом введении препарата Кортексин

Группа	Вводимое вещество, доза	Фагоцитарный показатель (M±m)	Фагоцитарное число (M±m)
Контроль	Физраствор	10,0±1,03	1,8±0,22
Кортексин	1 мг/кг	14,0±1,18	2,9±0,31*

* – статистически значимые различия по сравнению с группой животных. Контроль $p < 0,05$.

Заключение

Проведенные исследования позволяют сделать следующее заключение: препарат Кортексин обладает имму-

нотропным действием. Отмечено стимулирующее влияние этого препарата на Т-зависимый иммунный ответ и врожденный иммун-

ный ответ. Слабое стимулирующее влияние на клеточный иммунитет было выявлено у препарата пирарцетам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корнева Е.А. Введение в иммунофизиологию. СПб.: ЭЛБИ. 2003.
2. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В., Сепиашвили Р.И. Нейроиммунопатология. М., 2003;438.
3. Сотникова Н.Ю., Громова О.А., Новикова Е.А. Нейроиммуномодулирующие свойства церебролизина. Цитокины и воспаление. 2004; 2:34–9.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2005;832.
5. Irwin M.R. Human psychoneuroimmunology: 20 years of discovery. Brain Behav. Immunol. 2008;2:129–39.

Информация об авторах:

В.Н. Цыган — д.м.н., проф., зав. кафедрой патологической физиологии, главный ученый секретарь Ученого Совета Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург