

Е.В. Маркова, М.А. Фомичева, В.В. Абрамов, В.А. Козлов
**ПАРАМЕТРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ИММУННОЙ И НЕРВНОЙ СИСТЕМ
У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ
ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ
КЛЕТОК, ОБРАБОТАННЫХ НЕЙРОЛЕПТИКОМ**

УДК: [(612.017.1:576.3):(615.37:615.214.2)]:159.929

В настоящем исследовании показано, что прекультивированные с аминазином иммунокомпетентные клетки изменяют свою функциональную активность. Указанные клетки после трансплантации сингенным мышам-реципиентам способны существенно снижать параметры горизонтальной и вертикальной двигательной активности последних в тесте «открытое поле». Изменения параметров моторного и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения у животных после трансплантации обработанных нейрорептиком клеток сопровождаются изменением выраженности реакции гиперчувствительности замедленного типа. Представленные результаты демонстрируют возможность получения нейрорептического эффекта у экспериментальных животных путем трансплантации иммунокомпетентных клеток, предварительно обработанных аминазином.

Ключевые слова: нейрорептики, поведение, иммунная система, иммунокомпетентные клетки, трансплантация.

In the present research it is shown, that precultivated with aminazine immune competent cells change the functional activity. The specified cells after transplantation to syngenic mice-recipients are capable to reduce essentially parameters of horizontal and vertical impellent activity of the last in the test « the open field ». Changes of parameters of motor and research components of rough - research behaviour in animals after transplantation of processed with neuroleptic cells are accompanied by change of expressiveness of reaction of hypersensitivity of the delayed type. The presented results show an opportunity of reception of neuroleptic effect in experimental animals by transplantation immune competent cells preliminary processed by aminazine.

Keywords: neuroleptics, behaviour, immune system, immune competent cells, transplantation.

Нейрорептики достаточно эффективны и широко применяются в психиатрической практике; однако помимо специфического воздействия на функциональную активность нервной системы они обладают рядом побочных эффектов, которые проявляются в виде дистонии, акатазии, лекарственного паркинсонизма, медленной дискинезии, депрессии и сонливости. Некоторые из них, в частности препараты фенотиазинового ряда, могут вызывать нарушения атриовентрикулярной и внутрижелудочковой проводимости, угнетение дыхательного центра, обладают гипотензивным эффектом, гепатотоксичностью, что в ряде случаев ограничивает возможности применения указанных препаратов. Известно, что нервная и иммунная системы тесно взаимодействуют в процессе своего функционирования. Существование интеграционных взаимоотношений указанных систем, клеточные элементы которых характеризуются выраженным фенотипическим и функциональным сходством, подразумевает, в частности, возможность участия иммунокомпетентных клеток в регуляции процессов высшей нервной деятельности. Как показали наши предыдущие

исследования, функциональная активность иммунной системы и, в частности, ее клеточных элементов, связана с уровнем ориентировочно-исследовательского поведения [3,5,6,8–10]; и параметры данной поведенческой реакции могут быть направленно изменены путем трансплантации иммунокомпетентных клеток [4,7,8].

Целью исследования явилось изучение возможности получения нейрорептического эффекта у экспериментальных животных путем трансплантации иммунокомпетентных клеток, функциональная активность которых была изменена предварительной обработкой препаратом фенотиазинового ряда - аминазином.

Материалы и методы

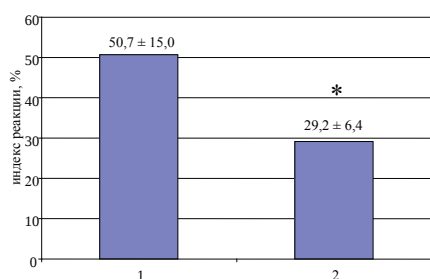
Работа выполнена на мышах-самцах (СВАхС57В1/6)F1 в возрасте трех месяцев. Животных содержали в условиях лабораторного вивария в клетках по 10 особей в каждой, не менее 2 недель до начала эксперимента на стандартной диете, при свободном доступе к воде и нормальному световому режиму. Все эксперименты проводились в период времени с 10 до 14 часов.

Ориентировочно-исследовательское поведение мышей оценивали в тесте «открытое поле» [2]. Для этого использовалась большая прямоугольная камера (100х100 см, 100 квадратов) с пластмассовыми стенками высотой 40 см. Освещение обеспечивалось бесшумной лампой мощностью 100 Вт, расположенной на высоте 100 см над центром поля. Животное помещалось в угол камеры, и регистрировалась его

ежеминутная активность в течение 5 мин. Подсчитывалось число пересеченных центральных и периферических квадратов, число вертикальных стоек (свободных и с опорой на стенку поля), суммарная двигательная активность. С целью определения степени эмоционального напряжения регистрировалось число фекальных болюсов. По характеру поведения в «открытом поле» мыши (СВА х С57В1/6)F1 достоверно разделяются на три группы: с высоким, средним и низким уровнем исследовательского поведения (УИП) [3,6,7,10]. Учитывая специфический эффект аминазина, в дальнейших экспериментах в качестве доноров и реципиентов использовались исключительно животные, характеризующиеся высоким уровнем ориентировочно-исследовательского поведения.

Иммунокомпетентные клетки для трансплантации выделяли из суспензии спленоцитов мышей – доноров, удалив эритроциты методом гемолитического шока. Далее клетки обрабатывали *in vitro* аминазином из расчета 15х10⁶ клеток/150 мкг аминазина в присутствии 3% FCS в течение 25 мин. Концентрация препарата, применяемая для обработки клеток, определялась путем перерасчета терапевтической дозы [1], с учетом веса и особенностей метаболизма животных. Затем, после 3-кратного центрифугирования с целью удаления остатков нейрорептика, не соединившегося с рецепторами клеток, прекультивированные с аминазином спленоциты внутривенно вводили мышам-реципиентам в концентрации 15х10⁶ клеток

Сотрудники ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН: **МАРКОВА Евгения Валерьевна** – к.м.н., доцент, с.н.с., e-mail: evgeniya_markova@mail.ru, **ФОМИЧЕВА Мария Александровна** – м.н.с., e-mail: lira357@ngs.ru, **АБРАМОВ Валерий Васильевич** – д.м.н., проф., зав. лаб., e-mail: valery_abramov@mail.ru, **КОЗЛОВ Владимир Александрович** – д.м.н., академик РАМН, директор.



Уровень реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей (СВАхС57В1/6)F1 после трансплантации иммунокомпетентных клеток, прекультивированных с аминазином: 1 – контрольная группа животных – реципиентов; 2 – опытная группа животных – реципиентов

* $p < 0,05$ между контрольными и опытными группами животных

в объеме 0,3 мл физиологического раствора на одно животное. В контрольной группе животных подготовка и трансплантация иммунокомпетентных клеток проводилась в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что последние культивировались без присутствия аминазина.

Пролиферативный ответ трансплантируемых клеток оценивали общепринятым методом реакции бластной трансформации лимфоцитов по включению ^3H -тимидина, как это было описано ранее [3]; результаты представлены в имп/мин.

У мышей-реципиентов определялись параметры ориентировочно-исследовательского поведения и выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

Для определения высоты реакции ГЗТ мышей иммунизировали внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (0,5% - 0,5 мл). Разрешающую дозу указанного антигена (50% - 0,05 мл) вводили под апоневроз задней стопы через 96 ч. Формирование реакции ГЗТ оценивали через 24 ч после разрешающей инъекции по степени опухания лапы (изменения её толщины по сравнению с позитивно-контрольной задней лапой того же животного, в которую была введена среда RPMI 1640). Индекс реакции определяли для каждой мыши и выражали в процентах [11].

Статистическую обработку результатов проводили с применением t-критерия Стьюдента и парного критерия Манна-Уитни (компьютерная программа "Statistica 6.0"). Результаты представлены в виде $M \pm SD$. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Параметры ориентировочно – исследовательского поведения мышей – реципиентов вследствие трансплантации иммунокомпетентных клеток, прекультивированных с аминазином ($M \pm SD$)

Группа животных-реципиентов	Горизонтальная двигательная активность			Вертикальная двигательная активность		
	периферическая	центральная	суммарная	свободная	с опорой на стенку	суммарная
Контроль (n = 27)	44,0±13,9	8,0±4,0	52,0±17,9	0,8±0,2	2,2±1,1	2,9±1,3
Опыт (n = 27)	20,7±9,9*	0,4±0,1*	21,1±10,1*	0,2±0,5*	0,7±0,1*	1,0±0,6*

* $p < 0,01$ между контрольной и опытной группами животных.

Результаты и обсуждение

Нами впервые была продемонстрирована способность клеток селезенки, выделенных у мышей, характеризующихся определенными параметрами поведения в тесте «открытое поле», после внутривенного введения направленно изменять указанные параметры поведения у сингенных реципиентов; причем характер этих изменений зависел от функциональной активности трансплантируемых клеток [4,7,8]. В настоящем исследовании оценивалась способность иммунокомпетентных клеток, обработанных аминазином, после их трансплантации вызывать у сингенных мышей-реципиентов нейрореплетический эффект. Полученные результаты свидетельствуют, что культивирование донорских спленоцитов с аминазином изменяет их функциональную активность, проявляющуюся в снижении спонтанной пролиферативной активности ($628,9 \pm 204$ имп/мин и $144,0 \pm 47,6$ имп/мин в контрольной и опытной группах соответственно; $p < 0,05$).

Трансплантация указанных клеток мышам-реципиентам вызывает у последних достоверное снижение параметров горизонтальной и вертикальной двигательной активности в тесте «открытое поле», что свидетельствует о подавлении как моторного, так и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения (таблица).

Со стороны иммунной системы животных-реципиентов наблюдается модуляция активности ее клеточного звена, проявляющаяся в снижении высоты реакции гиперчувствительности замедленного типа (рисунок). Тот факт, что изменения выраженности реакции ГЗТ у реципиентов сопровождают соответствующие изменения параметров их ориентировочно-исследовательского поведения, подтверждает сделанный ранее нами, а впоследствии и другими авторами, вывод о существовании прямой зависимости между этими показателями у различных видов животных [5,8–10,12].

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании продемонстрирована возможность получения нейрореплетического эффекта у экспериментальных животных путем трансплантации иммунокомпетентных клеток, прекультивированных с препаратом фенотиазинового ряда – аминазином. Данный подход исключает нежелательные побочные эффекты, возникающие при непосредственном приеме соответствующих препаратов, что расширяет возможности использования последних; равно как и возможности применения клеточной терапии.

Литература

1. Арена Д. Фармакотерапия психических расстройств / Д. Арена, Д. Розенбаум. – М.: БИНОМ, 2004.
2. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Хьюстон. – М., 1991.
3. Иммуноморфологические особенности животных с разным уровнем ориентировочно-исследовательского поведения / Маркова Е.В. [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2004. – Т.138. – № 10. – С.466-469.
4. Маркова Е.В., Абрамов В.В., Козлов В.А. // Бюлл. Сибирского отделения РАН. – 2007. – №.2 (124). – С.6-9.
5. Маркова Е.В. Показатели активности клеточного звена иммунного ответа крыс ВИСТАР и ОХYS и особенности их поведения в тесте «открытого поля» / Е.В. Маркова, Л.А. Обухова, Н.Г. Колосова // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2003. – Т. 136, № 12. – С.667-669.
6. Модуляция исследовательского поведения у мышей при активации клеточного звена иммунного ответа / Маркова Е.В. [и др.] // Там же. – 2001. – Т.132, № 10. – С.424-426.
7. Модуляция ориентировочно-исследовательского поведения мышей (СВА х С57В1/6)F1 иммунокомпетентными клетками / Абрамов В.В., Маркова Е.В., Короткова Н.А., Козлов В.А. // Там же – 2002. – Т.134. – № 9. – С.319-321.
8. Основы нейрореплетологии /Абрамов В.В [и др.]. – М., 2004.
9. Стимуляция клеточного звена иммунного ответа активизирует исследовательское поведение преждевременно стареющих крыс ОХYS/ Маркова Е.В. [и др.] // Бюлл. exper. биол. и мед. – 2005. – Т.140, № 9. – С.332-334.
10. The peculiarities of the immune status in mice with different level of behavioral reaction / Markova E.V. [et al.] // Russ. J. Immunol. – 2000. – Vol. 5, №. 1. – P. 89-95.
11. Yoshikai Y., Miake S., Matsumoto T. // Immunol. – 1979. –Vol. 38. –P. 577-583.
12. Viveros M.P., Fernandes B., Guayerbas N., Fluente M. // J. Neuroimmunology. – 2001. – Vol. 144. – P. 80-88.