

Семенова М. В., Курочкина К. Г. Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте и аверсекта комби // Российский паразитологический журнал.-М.-2015.-Вып.3.-С. .

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АВЕРСЕКТА ФОРТЕ И АВЕРСЕКТА КОМБИ

Семенова М. В., Курочкина К. Г.

Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина

117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28, e-mail: kurochkina@vniigis.ru

Реферат

Цель исследования – определение возможных иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С).

Материалы и методы. Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте и аверсекта комби проводили с применением реакции агглютинации и гиперчувствительности замедленного типа. Препарат для исследования вводили мышам двукратно подкожно в терапевтической дозе 0,05 мл/гол. В каждой опытной группе было по 7–10 мышей линии СВА × С57BL/6 массой 18–20 г. Животным контрольных групп вводили растворитель. Влияние препаратов на антителообразование определяли в реакции гемагглютинации на фоне иммунизации мышей эритроцитами барана (ЭБ). Титры агглютининов определяли в микроварианте прямой реакции гемагглютинации с вычислением индекса реакции. Влияние препаратов на Т-клеточный иммунитет *in vivo* оценивали у мышей по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ. Одновременно с последним введением тестируемого препарата мышам внутрибрюшинно иммунизировали 3%-ной взвесью ЭБ.

Результаты и обсуждение. Введение испытуемых препаратов не оказало угнетающего влияния на антителогенез у мышей опытных групп – $7,7 \pm 0,21$ и $7,4 \pm 0,22$ (\log_2) по сравнению с контролем – $8,0 \pm 0,0$ (\log_2), индекс реакции составил соответственно 0,96–0,93. Введение аверсекта форте несколько тормозит индукцию ГЗТ в организме мышей по сравнению с контролем: $7,10 \pm 0,57$ и $10,71 \pm 1,95$ % соответственно. Однако при введении аверсекта комби в терапевтической дозе хотя и происходит некоторое снижение индекса воспаления до $9,07 \pm 2,51$ %, но относительно показателя контрольной группы эта разница статистически недостоверна.

Ключевые слова: аверсект форте, аверсект комби, иммунотоксичность, реакция гиперчувствительности замедленного типа, антителообразование, реакция гемагглютинации.

Введение

Под иммунотропной активностью фармакологических средств понимают «побочные» нарушения, возникающие в структуре и функции иммунной системы при их применении. Поэтому, изучению этих вопросов придается особое значение, и такого рода исследования являются частью общей программы токсикологических исследований всех новых лекарственных средств [4].

Обязательному тестированию на иммунотоксичность должны подвергаться новые фармакологические средства, а также известные лекарственные средства, но по которым отсутствуют данные об изучении влияния на иммунную систему. Основная задача доклинического контроля иммунотоксичности потенциальных лекарственных средств состоит в том, чтобы в экспериментах на лабораторных животных доказать или исключить возможность нежелательных реакций иммунной системы, вызванных новыми препаратами или их метаболитами [1].

Для доклинического изучения иммунотоксических параметров у новых лекарственных средств обычно используют антигены различной природы, реакцию на которые лекарственное средство может изменять. Нативные эритроциты барана (ЭБ) являются тимусзависимым антигеном неинфекционной природы, который обычно используют в иммунологических исследованиях [2].

Как правило, изучают возможное влияние нового лекарственного средства на гуморальный и клеточный иммунитет. Исследуемый препарат может оказывать либо негативное воздействие – уменьшение числа антителообразующих клеток или титров агглютининов в крови, может быть индифферентным, а может проявлять и стимулирующий эффект.

О состоянии клеточного иммунитета животных после введения фармакологических препаратов можно судить по способности их влиять на индукцию реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к ЭБ.

Воспроизведение реакции ГЗТ дает представление о функциональной активности лимфоцитов Т-ряда, т. е. подразумевается влияние на клеточный иммунный ответ. Предварительное введение мышам эритроцитов барана вызывает образование антигенспецифических Т-лимфоцитов. При разрешающем введении этого антигена стимулированные Т-лимфоциты специфически взаимодействуют с ними и выделяют ряд цитокинов [3].

Интенсивность синтеза и секреции лимфоцитами факторов клеточного иммунитета соответствует степени выраженности воспалительной реакции в месте введения разрешающей дозы антигена (ЭБ) и характеризует активность популяции иммунокомпетентных клеток, ответственных за проявление реакции ГЗТ. Препарат может влиять на цифровые показатели этой реакции в ту или иную сторону в зависимости от своих свойств.

Целью наших исследований было определение возможных иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С).

Материалы и методы

Изучение иммунотоксических свойств аверсекта форте (ивермектин + абамектин) и аверсекта комби (ивермектин + аверсектин С) проводили с применением реакции агглютинации и ГЗТ. Препарат для исследования вводили двукратно подкожно в терапевтической дозе (для мышей 0,0004 мл/20 г) в объеме 0,05 мл/гол. Введение испытуемых препаратов в десятикратной дозе приводило к гибели животных.

В каждой опытной группе было по 7–10 мышей линии СВА × С57BL/6 массой 18–20 г. Животным контрольных групп вводили растворитель в том же объеме.

При определении иммуотропных свойств комплексного препарата пользовались «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ» (2005).

Определение уровня агглютининов. Влияние препарата на антителообразование определяли в реакции гемагглютинации на фоне иммунизации мышей ЭБ. Титры агглютининов определяли в микроварианте с использованием микротитратора прямой реакции гемагглютинации с вычислением индекса реакции (ИР) = опыт/контроль. При последнем введении препарата одновременно мышей иммунизировали внутрибрюшинно 3%-ной взвесью ЭБ в объеме 0,5 мл/гол. Определяли изменение титров антител (в \log_2) в сыворотке крови мышей на введение препаратов.

Критерием оценки реакции было изменение концентрации антител по сравнению с контролем. Если ИР = 0,5 и ниже, то препарат угнетает антителогенез, выше 1,3 – обладает стимулирующим эффектом.

Реакция ГЗТ. Влияние на Т-клеточный иммунитет *in vivo* оценивают у мышей по реакции ГЗТ к ЭБ. Одновременно с последним введением тестируемого препарата мышей внутрибрюшинно иммунизировали 3%-ной взвесью ЭБ (0,5 мл/гол.). На 5-е сутки вводили разрешающую дозу ЭБ – 10%-ную взвесь в объеме 0,02 мл в подушечки правых лап; в контролатеральную лапу вводили 0,9%-ный раствор NaCl в таком же объеме. По изменению массы лап через 24 ч определяли сдвиг индекса воспаления (ИВ), который вычисляли по формуле:

$$\text{ИВ} = \frac{M \text{ опыт.} - M \text{ контр.}}{M \text{ контр.}} \times 100 \%,$$

где М опыт. – масса опытной лапы, мг; М контр. – масса контрольной лапы, мг.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «Student 200».

Результаты и обсуждение

Реакция прямой гемагглютинации основана на способности агглютининов, содержащихся в сыворотке крови иммунизированных ЭБ животных, «склеивать» ЭБ, используемые для иммунизации. Через 8 сут после иммунизации (7–10 сут – пик выработки антител) у опытных и контрольных животных отбирали пробы крови, готовили сыворотку и тестировали ее в реакции гемагглютинации, используя 1,5%-ную взвесь ЭБ.

Результаты опыта приведены в таблице 1.

Таблица 1. Оценка влияния аверсекта форте и аверсекта комби на выработку агглютининов в крови мышей (n = 10)

Препарат	Доза, мл	Титр антител (\log_2)	ИР, О/К
Аверсект форте	0,05	$7,7 \pm 0,21$ $t = 1,33$	0,96
Аверсект комби	0,05	$7,4 \pm 0,22$ $t = 2,57$	0,93
Контроль	ЭБ	$8,0 \pm 0,0$	–

Как следует из данных, приведенных в таблице, введение испытуемых препаратов в терапевтической дозе не оказывало угнетающего влияния на антителогенез, что выражалось в статистически недостоверном снижении титров антител (агглютининов) у мышей опытных групп до $7,7 \pm 0,21$ и $7,4 \pm 0,22$ (\log_2) по сравнению с контролем – $8,0 \pm 0,0$ (\log_2), и индекс реакции составил соответственно 0,96–0,93.

Изучение действия лекарственных препаратов на клеточное звено иммунного ответа предполагает использование модельных систем, дающих представление о функциональной активности лимфоцитов Т-ряда. К таким тестам и относится реакция ГЗТ. Сенсibilизация организма белковыми антигенами ЭБ вызывает образование антигенспецифических Т-лимфоцитов. При повторном введении ЭБ (разрешающее введение) на месте введения развивается воспалительная реакция, интенсивность которой можно оценить [4].

Результаты исследования, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что введение аверсекта форте в терапевтической дозе несколько тормозит индукцию ГЗТ в организме мышей по сравнению с контрольной группой животных – $7,10 \pm 0,57$ и $10,71 \pm 1,95$ % соответственно. При введении аверсекта комби в терапевтической дозе, хотя и происходит некоторое снижение ИВ до $9,07 \pm 2,51$ %, но относительно показателя контрольной группы эта разница статистически недостоверна.

Таблица 2. Результаты реакции ГЗТ при введении аверсекта форте и аверсекта комби мышам (n = 7)

Препарат	Доза, мл	ИВ, %
Аверсект форте	0,05	$7,10 \pm 0,57$ $t = 1,64$
Аверсект комби	0,05	$9,07 \pm 2,51$ $t = 0,48$
Контроль	ЭБ	$10,71 \pm 1,95$

Заключение

Таким образом, аверсект комби и аверсект форте при введении мышам в терапевтической дозе не оказывают угнетающего действия на антителогенез. Титры агглютининов в крови опытных животных находятся практически на уровне контрольных животных – 0,93–0,96.

Введение аверсекта форте в терапевтической дозе тормозит выраженность воспалительной реакции ГЗТ на ЭБ, снижая ИВ до $7,10 \pm 0,57$ % по сравнению с показателями контрольных животных – $10,71 \pm 1,95$ %, что может свидетельствовать об угнетающем действии на клеточный иммунный ответ. Аверсект комби не оказывает отрицательного действия на формирование клеточного иммунного ответа. ИВ равен $9,07 \pm 2,51$ %.

Литература

1. Астафьев Б. А., Яроцкий Л. С., Лебедева М. Н. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине. – М.: Наука, 1989. – С. 229–239.
2. Петров Р. В., Чередеев А. И. Т- и В-лимфоциты // Успехи современной биологии. – 1974. – Т. 77, № 1. – С. 90–105.
3. Ройт И. Основы иммунологии. – М.: Мир, 1991. – С. 281–285.

4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ. – М., 2005.

References

1. Astaf'ev B. A., Yarotskiy L. S., Lebedeva M. N. Eksperimental'nye modeli parazitov v biologii i meditsine [Experimental models of parasitic diseases in biology and medicine]. Moscow, Nauka, 1989, pp. 229–239.
2. Petrov R. V., Cheredeev A. I. T- and B- lymphocytes. *Uspehi sovremennoy biologii*. [Advances in modern biology], 1974, vol. 77, no. 1, pp. 90–105.
3. Royt I. *Osnovy immunologii* [Fundamentals of immunology]. Moscow, Mir, 1991, pp. 281–285.
4. *Rukovodstvo po jeksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju farmakologicheskikh veshhestv* [Textbook for experimental (pre-clinical) studies of pharmacological compounds], Moscow, 2005.

Russian Journal of Parasitology

DOI:

Article history:

Received 05.05.2015

Accepted

Semenova M. V., Kurochkina K. G. The study of immunotoxic properties of Aversect Forte and Aversect Combi. Russian Journal of Parasitology, 2015, V.3, P. .

THE STUDY OF IMMUNOTOXIC PROPERTIES OF AVERSECT FORTE AND AVERSECT COMBI

Semenova M. V., Kurochkina K. G.

All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St, email: kurochkina@vniigis.ru

Abstract

Objective of research: Determination of possible immunotoxic properties of Aversect Forte (Ivermectin + Abamectin) and Aversect Combi (Ivermectin + Aversectin C).

Materials and methods: The immunotoxic properties of Aversect Forte and Aversect Combi were studied using the agglutination test and delayed hypersensitivity response.

Mice were injected subcutaneously twice daily with the drug at a therapeutic dose 0,05 ml/ind. In each experimental group, there were 7–10 mice of the line CBA × C57BL/6 with the mass of 18–20 g. The control group received solvent injections.

The effect of the drugs on antibody formation was determined by hemagglutination reaction on the background of immunization of mice with sheep erythrocytes. Agglutinin titres were detected by a direct micro-hemagglutination test along with the calculation of Reaction Index.

The effect of drugs on the T-cell immunity in vivo was estimated using the delayed-type hypersensitivity reactions to sheep erythrocytes.

Mice were immunized with the 3% suspension of sheep erythrocytes injected into the abdomen simultaneously with the recent injection of the tested drug.

Results and discussion: The administration of tested drugs didn't have a suppressive effect on serogenesis in mice from experimental groups – $7,7 \pm 0,21$ and $7,4 \pm 0,22$ (log₂) in comparison to the controls – $8,0 \pm 0,0$ (log₂); Reaction Index was 0,96–0,93, respectively.

The administration of Aversect Forte may cause a slight decrease in induction of delayed-type hypersensitivity reactions in mice in comparison with the controls: $7,10 \pm 0,57$ and $10,71 \pm 1,95$ %, respectively.

Regardless of slight decrease in inflammation index (up to $9,07 \pm 2,51$ %), when using Aversect Combi at the therapeutic dose, this difference is uncertain statistically in relation to the control values.

Keywords: Aversect Forte, Aversect Combi, immunotoxicity, delayed-type hypersensitivity reaction, antibody formation, hemagglutination reaction.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI)http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)