

© Коллектив авторов, 2011
УДК 612.017.1:617.51-001.3-08:599.323.4

Е. Г. Рыбакина
докт. биол. наук

С. Н. Шанин
канд. мед. наук

И. А. Козинец

Е. В. Дмитриенко

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Коррекция функций иммунной системы препаратом «Деринат» после экспериментальной черепно-мозговой травмы

Исследование посвящено определению корригирующего действия лекарственного препарата нуклеотидной природы «Деринат» на некоторые показатели активности функций иммунной системы (цитотоксическую и пролиферативную активность спленоцитов, соотношения концентраций цитокинов *IL-10/IL-6* в крови) у крыс после экспериментальной черепно-мозговой травмы. Установлено, что четырехдневное внутрибрюшинное введение Дерината животным, перенесшим тяжелую механическую черепно-мозговую травму, приводит к предотвращению длительной стимуляции клеток иммунной системы, индуцированной травматическим воздействием, и к 14-м суткам вызывает нормализацию как цитотоксической, так и пролиферативной активности спленоцитов. Соотношение концентраций в крови *IL-10/IL-6*, сниженное у травмированных крыс, под действием Дерината полностью восстанавливается до тех же значений, что и у контрольных животных. Результаты исследования демонстрируют несомненные перспективы использования Дерината для лечения заболеваний, обусловленных черепно-мозговой травмой.

Ключевые слова: иммунная система, эксперимент, черепно-мозговая травма, Деринат

Развитие любого заболевания, в том числе после получения черепно-мозговой травмы, обусловлено нарушением механизмов защиты организма и их регуляции. Выявление природы этих нарушений открывает новые пути и возможности направленного, адресного воздействия на них для коррекции активности функций иммунной системы и, следовательно, лечения заболевания.

Одним из корректоров нарушенных защитных функций является лекарственный препарат «Деринат» — натриевая соль нативной ДНК с молекулярной массой 270 000–500 000 дальтон. Деринат, получаемый из молок лососевых или осетровых рыб (ЗАО «ФП Техномедсервис», Москва), обладает иммуномодулирующей, противовоспалительной, противовирусной, регенеративной активностью [1, 2].

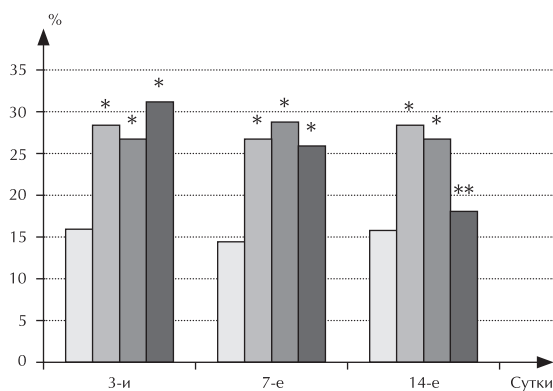
Целью работы явилось исследование изменения цитотоксической и пролиферативной активности клеток селезенки — спленоцитов, концентраций цитокинов интерлейкина 6 (*IL-6*) и интерлейкина 10 (*IL-10*) и их баланса в крови крыс после получения животными черепно-мозговой травмы (ЧМТ), а также определение возможного корригирующего действия Дерината на эти показатели активности функций иммунной системы организма.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на крысах-самцах породы *Wistar* массой 250–280 г. В качестве модели механической травмы головного мозга использован удар грузом массой 67 г, падающим с высоты 70 см в центр теменной части головы животного.

Через 2 ч после нанесения травмы, а затем на 2-е, 3-и и 4-е сутки крысам вводили внутрибрюшинно Деринат в дозе 10 мг/кг (весь

Елена Георгиевна Рыбакина
e-mail: vrybakin@mail.ru



Здесь и на рис. 2:

- Контрольные животные
- ▒ Животные с ЧМТ
- ▓ Животные с ЧМТ + введение 0,15 М NaCl
- Животные с ЧМТ + введение Дерината

Здесь и на рис. 2, 3:

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем цитотоксической активности спленоцитов у контрольных животных;

** $p < 0,05$ по сравнению с показателем цитотоксической активности спленоцитов у животных после ЧМТ, получавших после травмы инъекции 0,15 М NaCl

Рис. 1. Влияние Дерината в дозе 10 мг/кг на цитотоксическую активность НК-клеток селезенки крыс на 3-и, 7-е и 14-е сутки после нанесения ЧМТ

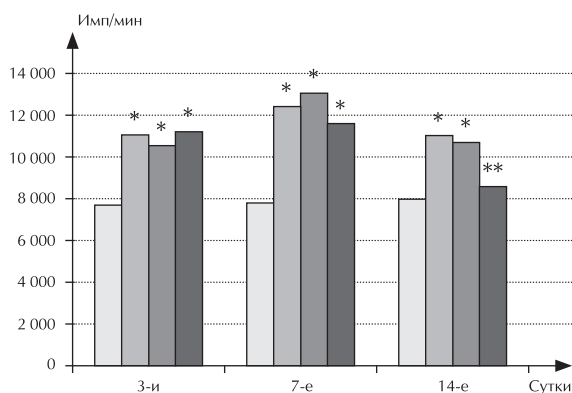


Рис. 2. Влияние Дерината в дозе 10 мг/кг на пролиферативную активность спленоцитов крыс, стимулированных Кон А и IL-1β, на 3-и, 7-е и 14-е сутки после нанесения ЧМТ

курс — 4 инъекции). Контрольным животным вводили ежедневно четырехкратно физиологический раствор.

Цитотоксическую активность спленоцитов крыс, отражающую активность натуральных киллерных (НК) клеток селезенки, оценивали

по их способности уничтожать (лизировать) клетки миелолейкоза человека К-562 (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург) [3]. Пролиферативную активность спленоцитов определяли по интенсивности реакции их деления и размножения в ответ на комитогенное действие *IL-1β* (Sigma) в присутствии Конканавалина А (Кон А) в субоптимальной дозе [3]. Интенсивность пролиферации (имп/мин) оценивали с помощью сцинтилляционного бета-счетчика (LKB, Sweden; Beckman, USA) по включению меченого тимидина в ДНК делящихся клеток. Концентрации цитокинов *IL-6* и *IL-10* в сыворотке крови измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов ELISA kit (R&D Systems, USA).

Статистическая обработка результатов была проведена по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Показано, что цитотоксическая активность НК-клеток селезенки — первого и важнейшего барьера на пути развития вирусиндуцированных и опухолевых процессов — возрастает на 3-й день после нанесения травмы и остается повышенной в течение 14-дневного периода наблюдения (рис. 1). Курсовое введение Дерината крысам не изменяло уровня активности этих клеток на 3-й и 7-й дни после ЧМТ, но на 14-й день приводило к его существенному снижению (до уровня активности клеток контрольных животных) по сравнению с активностью клеток травмированных животных, которым вместо Дерината вводили внутрибрюшинно физиологический раствор.

Сходные данные получены при исследовании пролиферативной активности спленоцитов, определяющей уровень развития иммунного ответа. После нанесения травмы и введения Дерината наблюдалось повышение степени пролиферации спленоцитов у травмированных животных в ответ на сочетанное действие *IL-1β* и Кон А в течение всего периода наблюдения (рис. 2). Введение Дерината не изменяло эти показатели на 3-й и 7-й день после ЧМТ, но на 14-й день пролиферативная активность спленоцитов снижалась до базального уровня, характерного для контрольных животных.

Таким образом, Деринат, введенный внутрибрюшинно животным, перенесшим тяжелую механическую ЧМТ, в течение четырех дней предотвращает длительную, излишнюю

стимуляцию клеток иммунной системы, индуцированную травматическим воздействием, и к 14-м суткам вызывает нормализацию как цитотоксической, так и пролиферативной активности спленцитов.

По данным литературы последних лет, цитокины играют существенную роль в патогенезе ЧМТ [4, 5]. При исследовании особенностей изменения концентраций цитокинов в сыворотке крови крыс после ЧМТ установлено повышение содержания *IL-6* и *IL-10* на 3-и сутки после нанесения травмы.

IL-6 является медиатором воспаления, с одной стороны, и ингибитором продукции провоспалительных цитокинов *TNF-α* и *IL-1β*, с другой, то есть проявляет свойства как про-, так и противовоспалительного цитокина [6]. По данным литературы [7], длительное повышение содержания в крови *IL-6*, являющегося активатором гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы, может рассматриваться как один из признаков перенапряжения последней, которое в случае травматической болезни является неблагоприятным прогностическим симптомом течения заболевания [5].

IL-10 является противовоспалительным цитокином, подавляющим выработку многих провоспалительных цитокинов и модулирующим функции иммунной системы [6, 8]. Установлено, что резкое увеличение содержания *IL-10* в периферической крови пациентов является неблагоприятным прогностическим признаком исхода любой травмы, в том числе ЧМТ [4, 5].

Тем не менее, при ряде заболеваний (например, атеросклерозе) *IL-10* играет позитивную роль, оказывая тормозящее действие на тромбоз сосудов за счет подавления активации макрофагов, а также ингибирования продукции провоспалительных цитокинов [9].

В проведенном исследовании установлено, что введение Дерината как нетравмированным, так и травмированным животным не влияло на уровень этих цитокинов в сыворотке крови во все сроки наблюдения.

Анализ данных литературы, посвященных роли про- и противовоспалительных цитокинов в патогенезе разных заболеваний, показывает значимость определения не только уровня самих цитокинов, но и соотношения их концентраций, в частности концентраций *IL-10/TNF-α*, *IL-10/IL-6* [9]. На рис. 3 представлены результаты исследования показателя цитокинового профиля в сыворотке пери-

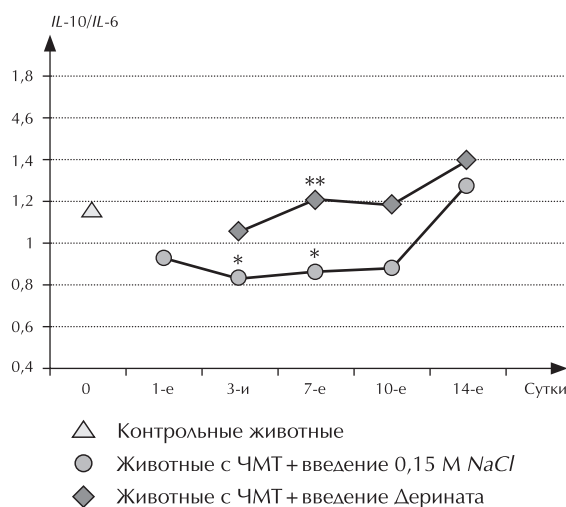


Рис. 3. Влияние Дерината в дозе 10 мг/кг на отношение концентраций *IL-10/IL-6* в сыворотке крови животных на 3-и, 7-е и 14-е сутки после нанесения ЧМТ

ферической крови травмированных крыс в виде соотношения концентраций *IL-10/IL-6*: ЧМТ приводила к снижению соотношения *IL-10/IL-6* на 3–7-е сутки после нанесения травмы; на 1–10-е сутки это соотношение было ниже единицы.

Полученные данные подчеркивают актуальность экспериментального поиска средств, способных индуцировать восстановление баланса цитокинов, нарушенного при ЧМТ. В проведенном исследовании таким корректором является Деринат, при введении которого травмированным животным происходит восстановление баланса *IL-10/IL-6* до значений выше единицы, соответствующих этому соотношению у контрольных животных (рис. 3).

Результаты проведенного исследования обосновывают успешное применение Дерината в комплексном лечении пациентов с тяжелой патологией головного и спинного мозга в клинике, в частности в практике работы нейрохирургического отделения ГУЗ ОКБ № 1 Воронежа.

Выводы

Результаты работы позволяют заключить, что введение Дерината оказывает нормализующее действие на цитотоксическую и пролиферативную активность спленцитов у крыс к 14-м суткам после нанесения механической черепно-мозговой травмы. Соотношение кон-

центраций в крови *IL-10/IL-6*, сниженное у травмированных животных, под действием Дерината полностью восстанавливается до значений у контрольных животных во все сроки наблюдений.

Таким образом, изменения цитотоксической активности натуральных киллерных клеток и пролиферативной активности спленцитов, баланса концентраций цитокинов *IL-10/IL-6* в сыворотке крови являются информатив-

ными показателями уровня активности функций иммунной системы при механической черепно-мозговой травме и могут быть скорректированы препаратом «Деринат».

Полученные данные раскрывают перспективность использования этого натурального иммуномодулирующего препарата нуклеотидной природы для лечения заболеваний, обусловленных не только травмой, но и другими повреждающими воздействиями.

Литература

1. Каплина Э. Н., Вайнберг Ю. П. Деринат — природный иммуномодулятор для детей и взрослых. М.: Науч. книга, 2005.
2. Отечественные препараты из природной ДНК Деринат, Ферровир. Науч. информация для специалистов и практикующих врачей / Под ред. Е. А. Корневой. М.— Тверь: Триада, 2009.
3. Рыбакина Е. Г., Фомичева Е. Е., Шанин С. Н. и др. Активность защитных функций организма при стрессе и их коррекция препаратом Деринат // Мед. иммунология. 2008. Т. 10. № 4–5. С. 431–438.
4. Черешнев В. А., Юшков Б. Г., Климин В. Г., Лебедева Е. В. Иммунофизиология. Екатеринбург: УрО РАН, 2002.
5. Шевченко К. В., Четвертных В. А., Кравцов Ю. И. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме // Иммунология. 2009. Т. 30. № 3. С. 180–184.
6. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008.
7. Drenth J. P., Van Uum S. H., Van Dueren M. Endurance run increases circulation IL-6 and IL-1 but downregulates ex vivo TNF- α and IL-1 beta production // J. Appl. Physiol. 1995. Vol. 79. P. 1497–1503.
8. Бурместер Г.-Р., Пеццито А. Наглядная иммунология. М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2007.
9. Waehre T., Halvorsen B., Damas J. K. et al. Inflammatory imbalance between IL-10 and TNF α in unstable angina: potential plaque stabilizing effects of IL-10 // Europ. J. Clin. Invest. 2002. Vol. 32. № 11. P. 803–810.

Ye. G. Rybakina, S. N. Shanin, I. A. Kozinets, E. V. Dmitrienko

Institute for Experimental Medicine, St. Petersburg

Correction of the immune system functional activity after experimental brain trauma with Derinat medication

The aim of the study was investigation of correcting action of Derinat — medication of nucleotide nature - on certain indicators of the immune system functional activity (cytotoxic and proliferative activities of splenocytes, blood interleukin10/interleukin 6 ratio) in rats exposed to experimental brain trauma. It was shown that 4 days long intraperitoneal administration of Derinat in animals exposed to severe mechanical brain trauma led to prevention of trauma induced prolonged stimulation of the immune competent cells and by the 14th day provoked normalization of both cytotoxic and proliferative splenocyte activities. Interleukin 10/interleukin 6 blood ratio, that was decreased in trauma exposed rats, completely restored under Derinat action up to the same values as in intact animals. The results obtained demonstrate obvious perspectives of Derinat employment for treatment of patients with brain trauma.

Key words: immune system, experiment, craniocerebral trauma, Derinat