

УДК 615.256.55:632.938-026.86

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОТОКСИЧНОСТИ И АЛЛЕРГЕННЫХ СВОЙСТВ 11-ДЕЗОКСИМИЗОПРОСТОЛА

¹Катаева Р.М., ¹Аглетдинов Э.Ф., ¹Катаев В.А., ²Иванова Н.А., ¹Халиков Р.А.
¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,
 Уфа, e-mail: eagletdinov@yandex.ru;

²ФГБУН «Институт органической химии Уфимского научного центра
 Российской академии наук» Российская Федерация, Уфа

Новое лекарственное средство «11-дезоксимизопропростол» – этиловый эфир (±)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1, относится к ряду 11-дезоксипростагландинов и близко по химическому строению к мизопроустолу. Будучи химически более стабильным и менее токсичным, оно превосходит мизопроустол по утеротонической активности, что, наряду с синтетической доступностью и отсутствием побочных эффектов, делает его исключительно перспективным для внедрения в практику с целью замены мизопроустола в гинекологических бинарных препаратах. Обязательным этапом доклинических исследований новых лекарственных веществ является изучение их влияния на функциональную активность иммунной системы лабораторных животных. Представлены результаты экспериментального изучения специфической токсичности лекарственного средства «11-дезоксимизопропростол». Показано, что лекарственное средство не обладает аллергенными свойствами, выявляемыми в реакции дегрануляции тучных клеток, иммунных комплексов, а также в конъюнктивной пробе, и не влияет на величину массовых коэффициентов и клеточность селезенки и тимуса. При изучении иммунотоксических свойств показано, что введение лекарственного средства «11-дезоксимизопропростол» не обуславливало изменений иммунитета, выявляемых в реакции гиперчувствительности замедленного типа, гемагглютинации, оценке фагоцитарной активности макрофагов.

Ключевые слова: 11-дезоксимизопропростол, иммунотоксичность, аллергенные свойства

STUDY OF IMMUNOTOXICITY AND ALLERGENIC PROPERTIES OF 11-DEOXY MISOPROSTOL

¹Kataeva R.M., ¹Agletdinov E.F., ¹Kataev V.A., ²Ivanova N.A., ¹Khalikov R.A.

¹Bashkir state medical university, Ufa, e-mail: eagletdinov@yandex.ru;

²Federalnoe state budgetary institution of science Institute of organic chemistry
 of Ufa scientific centre of Russian Academy of Sciences, Ufa

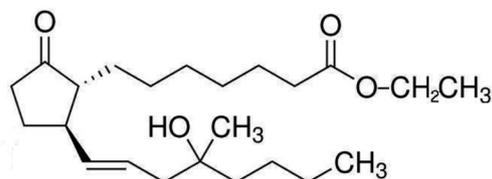
New medicament, «11 – deoxymisoprostol» – ethyl (±)-11,15-dideoxy-16-methyl-16 – hydroxyprostaglandin E1, refers to row of 11 – deoxyprostaglandin and in chemical structure similar to misoprostol. Being chemically more stable and less toxic, it is superior to misoprostol uterotonic activity, which, along with the synthetic accessibility and lack of side effects makes it very promising for practical application in order to replace misoprostol gynecological binary formulations. Obligatory stage preclinical studies of new drugs is to study their effect on the functional activity of the immune system of laboratory animals. The results of an experimental study of specific toxicity means «11 – deoxymisoprostol». It was shown that the drug has no allergenic properties detectable in mast cell degranulation reaction, immune complexes, as well as the conjunctival sample and does not affect the weight coefficients and cellularity of the spleen and thymus. In the study of immunotoxic properties shown that the introduction of the drug «11-dezoksimisoprostol» not resulted in changes in immunity detected in the delayed-type hypersensitivity, hemagglutination, evaluation of the phagocytic activity of macrophages.

Keywords: 11-deoxymisoprostol, immunotoxic properties, allergenic properties

Исследуемое вещество 11-дезоксимизопропростол (11-ДМП) – этиловый эфир (±)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1 (рисунок), проявляющее утеротоническую активность.

Это соединение относится к ряду 11-дезоксипростагландинов и близко по химическому строению к мизопроустолу. Будучи химически более стабильным и в 2 раза менее токсичным, оно превосходит мизопроустол по утеротонической активности, что, наряду с синтетической доступностью и отсутствием побочных эффектов, делает его исключительно перспективным для внедрения в практику с целью замены мизопроустола в гинекологических бинарных препаратах. Описаны синтез [5], противоязвенная

и ряд других видов активности соединений 11-дезоксимизопроустола [4, 8, 9].



Этиловый эфир (±)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1 (11-дезоксимизопропростол)

Исходя из того, что 11-ДМП в настоящее время рассматривается как перспективное

утеротоническое, иммуномодулирующее и противоязвенное средство, представляется целесообразным изучение и детализация механизмов его антиоксидантного действия, поскольку показано, что окислительный стресс может лежать в основе многих патологических процессов, а его устранение способствует коррекции нарушений [1]. Однако, прежде чем приступать к изучению специфической активности новых фармакологических субстанций, необходимо предварительно оценить их токсические свойства. Одним из обязательных этапов доклинических исследований новых лекарственных средств является изучение их влияния на функциональную активность иммунной системы лабораторных животных.

Под иммунотоксическим действием фармакологических средств понимают побочные, опасные для здоровья некомпенсированные нарушения в структуре и функции иммунной системы, которые могут привести к снижению резистентности организма к инфекции, повышению риска развития онкологических заболеваний, развитию аутоиммунных патологий [6].

Под алергизирующими свойствами понимают способность того или иного вещества вызывать при введении в организм состояние повышенной чувствительности (гиперчувствительности, сенсибилизация) [2]. В основе патогенеза наиболее тяжелых аллергических осложнений, развивающихся по 1 типу гиперчувствительности, лежит активация Th2 хелперов и продукция цитокинов IL-4, IL-5 и IL-13, с последующим синтезом IgE-антител, имеющих высокое сродство к тучным клеткам и базофилам [3]. Антиген вступает во взаимодействие с фиксированными на тучных клетках IgE-антителами, что приводит к активации клеток и секреции медиаторов аллергии (гистамина, серотонина и др.). Согласно классификации P.G.H.Gell и P.R.A.Coombs имеется еще 4 типа гиперчувствительности, в основе которых лежат другие иммунопатологические механизмы [10].

Цель исследования: изучение иммунотоксических и алергизирующих свойств лекарственного средства «11-дезоксиминопростол» при внутрижелудочном введении.

Материалы и методы исследования

Имунотоксическое действие лекарственного средства 11-ДМП изучено на лабораторных животных. Исследование проведено в соответствии с «Методическими указаниями по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ» [6, 7]. Эксперименты выполнены на мышьях-самках линии СВА 7–8-недельного возраста (масса тела 20–22 г), и белых морских свинок. Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла четырнадцать (14) дней. В течение каран-

тина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках (заболеваемость и смертность).

Животных распределяли по группам, используя при рандомизации в качестве основного критерия массу тела (отклонение значений массы тела в пределах группы не более 10%). Количество животных в каждой экспериментальной группе – 15. Животные, не соответствующие критериям включения в исследование, исключены из исследования в течение карантина. Для оценки иммунотоксического действия 11-ДМП вводили животным внутрижелудочно в дозах 2, 10 и 20 мг/кг массы в форме суспензии в 1%-м крахмальном геле. Рабочие разведения 11-ДМП готовили в день введения. Животные из группы негативного контроля получали 1% крахмальный гель (плацебо).

Для оценки иммунотоксических свойств исследовали показатели неспецифического, специфического гуморального и клеточного иммунитета мышей, оценивали его влияние на массу лимфоидных органов и их клеточность. Алергенные свойства 11-ДМП оценивали в методах анафилактического шока, непрямой реакции дегрануляции тучных клеток, реакции иммунных комплексов и конъюнктивальной пробы [6]. Для постановки конъюнктивальной пробы использованы белые морские свинки (самцы с массой тела 200–250 г, n = 30), разделенные в ходе эксперимента на две группы: опытную (n = 15) и контрольную (n = 15).

Результаты обрабатывались общепринятыми методами вариационной статистики и выражались в виде среднearифметической (M) и её стандартной ошибки (m). Применялись критерии непараметрической статистики: Манна – Уитни (U). Обработка полученных данных производилась с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.

Результаты исследования и их обсуждение

Лимфоидные органы (тимус и селезенка) экспериментальных животных взвешивали и определяли их массовые коэффициенты (индексы массы (ИМ)) и количество ядродержащих клеток (клеточность). Результаты исследования представлены в табл. 1. Введение 11-ДМП не сопровождалось изменениями величины массовых коэффициентов и клеточности тимуса и селезенки у животных опытных групп.

Размеры и форма селезенки и тимуса у животных опытных групп не отличались от таковых в контрольной группе. Полученные данные позволяют заключить, что введение 11-ДМП в дозах 2, 10 и 20 мг/кг не привело к изменению массовых и клеточных параметров тимуса и селезенки.

Из данных, представленных в табл. 2, следует, что введение животным исследуемого препарата не повлияло на фагоцитарную активность макрофагов. Процент фагоцитирующих клеток значимо не изменялся в группах животных, которым вводили препарат. Таким образом, введение 11-ДМП экспериментальным животным не оказало влияния на изменение функциональной активности макрофагов.

Таблица 1

Индексы массы (мг/10 г веса тела, $M \pm m$) и клеточность ($\times 10^6$, $M \pm m$) тимуса и селезенки мышей при введении 11-ДМП

Группы	Исследуемые органы			
	Тимус		Селезенка	
	ИМ	Клеточность	ИМ	Клеточность
Контроль (n = 15) (плацебо, крахмал)	25,1 ± 1,8	37,5 ± 3,5	52,4 ± 3,5	100,3 ± 5,9
11-ДМП, 2 мг/кг (n = 15)	25,3 ± 1,4	37,3 ± 1,2	53,2 ± 2,1	105,1 ± 8,7
11-ДМП, 10 мг/кг (n = 15)	26,5 ± 2,9	39,1 ± 4,5	54,8 ± 1,5	109,3 ± 9,1
11-ДМП, 20 мг/кг (n = 15)	24,8 ± 1,9	37,1 ± 2,0	52,9 ± 2,8	104,0 ± 4,5

Таблица 2

Влияние 11-ДМП на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов

Группы	Доза препарата, мг/кг	Фагоцитарный индекс, %, $M \pm m$
Контроль (n = 15) (плацебо, крахмал)	–	29,8 ± 3,9
11-ДМП	2 (n = 15)	29,1 ± 3,0
	10 (n = 15)	31,0 ± 3,4
	20 (n = 15)	28,6 ± 3,0

Таблица 3

Влияние 11-ДМП на величину отека лапы

Группы	Доза, мг/кг	Величина отека, мг ($M \pm m$)	ИР, % ($M \pm m$)
Контроль (n = 15) (плацебо, крахмал)	–	413 ± 4,7	36,8 ± 4,1
11-ДМП	2 (n = 15)	40,8 ± 0	37,4 ± 3,0
	10 (n = 15)	39,7 ± 2,9	35,1 ± 3,8
	20 (n = 15)	409 ± 4,1	37,0 ± 2,9

Таблица 4

Влияние 11-ДМП на гуморальный иммунный ответ

Группы	Доза, мг/кг	Общий титр антител (Log_2), $M \pm m$	Титр IgG, (Log_2), $M \pm m$
Контроль (n = 15) (плацебо, крахмал)	–	5,9 ± 0,9	5,0 ± 0,7
11-ДМП	2 (n = 15)	5,7 ± 1,0	5,1 ± 0,8
	10 (n = 15)	5,5 ± 1,1	5,0 ± 0,5
	20 (n = 15)	5,3 ± 0,9	4,8 ± 0,6

Таблица 5

Влияние препарата 11-ДМП на показатель дегрануляции тучных клеток

Группы	Доза, мг/кг	ПДТК, кол-во клеток ($M \pm m$)
Контроль (плацебо, крахмал)	–	0,089 ± 0,018
11-ДМП	2 (n = 15)	0,085 ± 0,019
	10 (n = 15)	0,088 ± 0,025
	20 (n = 15)	0,09 ± 0,021

Введение животным 11-ДМП во всех исследованных дозах не оказало влияния на интенсивность клеточного иммунного ответа. Величина отека лапы у животных, которым вводили 11-ДМП, не отличалась от соответствующих показателей группы контроля (табл. 3).

Таким образом, 11-ДМП не обладает значимыми сенсибилизирующими свойствами и не оказывает влияния на клеточное звено иммунной системы (табл. 4).

Результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о том, что введение 11-ДМП не влияет на развитие антителобразованию у мышей.

Введение 11-ДМП в обеих исследуемых дозах не повлияло на развитие аллергических реакций у морских свинок. Отек ткани на месте инъекции, гиперемии, изменений кожного покрова не отмечено.

Введение исследуемого вещества не оказало влияния на процесс дегрануляции тучных клеток. Значение показателя дегрануляции тучных клеток (ПДТК) у животных из опытных и контрольной групп не превышало 0,2 (табл. 5).

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что 11-ДМП не обладает аллергенными свойствами, выявляемыми в непрямой реакции дегрануляции тучных клеток.

На всех сроках наблюдения ни у одного животного не была выявлена реакция на введение исследованных доз препарата при проведении конъюнктивальной пробы. Введение препарата не сопровождалось покраснением слезного протока, склеры или конъюнктивы.

Заключение

При изучении иммунотоксических свойств 11-ДМП показано, что препарат не вызывает изменений иммунитета, выявляемых по влиянию на лимфоидные органы, в реакции гиперчувствительности замедленного типа, образовании антител и фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов. В результате изучения аллергенного действия препарата показано, что 11-ДМП не обладает аллергенными свойствами, выявляемыми в реакциях дегрануляции тучных клеток, иммунных комплексов, а также в конъюнктивальной пробе.

Список литературы

1. Аглетдинов Э.Ф., Никоноров А.А., Камиллов Ф.Х. Влияние стойких загрязнителей на антиоксидантный статус печени крыс. // Гигиена и санитария. – 2009. – № 4. – С. 66–67.
2. Адо А.Д. // Общая аллергология. – М.: Медицина, 1978. – 462 с.
3. Гушин И.С. //Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. – М.: Фармарус Принт, 1998. – 250 с.

4. Иванова Н.А., Сапожникова Т.А., Зарудий Ф.С., Басченко Н.Ж., Макара Н.С., Хисамутдинова Р.Ю., Габдрахманова С.Ф., Назаров В.С. Гепатопротекторная активность 2-дезметоксикарбонил-2-этоксикарбонил-11-дезоксимизопростола. // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2007. – Т. 70, № 4. – С. 30–31.

5. Иванова Н.А., Шайнурова А.М., Мифтахов М.С. Простаноиды. LXIX. Синтез этилового эфира (±)-11,15-дидезокси-16-метил-16-гидроксипростагландина E1. // Хим.-фарм. Журнал. – 1998. – № 6. – С. 39–40.

6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая » под редакцией Миронова А.Н. – М.: Гриф и К. – 2012. – 944 с.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» под редакцией Хабриева Р.У. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 828 с.

8. Сапожникова Т.А., Зарудий Ф.С., Карачурин Л.Т., Макара Н.С., Хисамутдинова С.Ю., Иванова Н.А., Шайнурова А.М., Мифтахов М.С. Фармакологические свойства 11-дезоксимизопростола. // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2003. – Т. 66, № 1. – С. 34–36.

9. Сапожникова Т.А., Зарудий Ф.С., Басченко Н.Ж., Габдрахманова С.Ф., Макара Н.С., Хисамутдинова Р.Ю., Назаров В.С. Желчегонная активность 2-дезметоксикарбонил-2-этоксикарбонил-11-дезоксимизопростола на модели гепатита, вызванного СС1. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, № 2. – С. 183–184.

10. Cell P.G.H., Coombs P.R.A. // Clinical aspects of immunology. – Oxford, Edinburg, 1975. – 1754 p.

References

1. Agletdinov E.F., Nikonov A.A., Kamilov F.Kh. Gigena I sanitariya, 2009, no. 4, p. 66–67.
2. Ado A.D. Obschya allergologia [General allergology]. Moscow, Medicine, 1978. 462 p.
3. Guschin I.S. Allergicheskoe vospalenie i ego farmakologicheskij kontrol [Allergic inflammation and its pharmacological control]. Moscow, Farmaus Print, 1998. 250 p.
4. Ivanova N.A., Sapozhnikova T.A., Zarudiy F.S., Baschenko N.Zh., Makara N.S., Chisamutdinova R.Yu., Gabdrachmanova S.F., Nazarov V.S. Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya, 2007, Vol. 70, no. 4, pp.30–31.
5. Ivanova N.A., Shaynurova A.M., Mitfakhov M.S. Khimicheskij Farmaceuticheskij Zhurnal, 1998, no. 6, pp. 39–40.
6. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast pervaya [Guidelines for pre-clinical trials of medicinal products. Part one]. Moscow, Grif, 2012. 944 p.
7. Khabriev R.U. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu no vych farmakologicheskikh veshchestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow, Medicine, 2005. 828 p.
8. Sapozhnikova T.A., Zarudiy F.S., Karachurina L.T., Makara N.S., Chisamutdinova R.Yu., Ivanova N.A., Shaynurova A.M., Mitfakhov M.S. Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya, 2003, Vol. 66, no. 1, pp. 34–36.
9. Sapozhnikova T.A., Zarudiy F.S., Baschenko N.Zh., Gabdrachmanova S.F., Makara N.S., Chisamutdinova R.Yu., Nazarov V.S. Bulletin of experimental biology and medicine, 2008, Vol. 145, no. 2, pp.183–184.
10. Cell P.G.H., Coombs P.R.A. Clinical aspects of immunology. Oxford, Edinburg, 1975. 1754 p.

Рецензенты:

Зарудий Ф.С., д.м.н., профессор кафедры фармакологии № 1 с курсом клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа;

Дианов В.М., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 30.12.2014.