

ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ ЭТОМЕРЗОЛА И ТИМОГЕНА

С. В. Оковитый, В. В. Гайворонская¹

Показано, что репаративно-регенераторные эффекты актопротектора этомерзола и иммуномодулятора тимогена могут реализоваться через определенные звенья иммунной системы, в частности, через тимус. Тимоген и этомерзол утрачивают гепатопротекторное свойство на фоне тимэктомии, но оказывают иммуномодулирующее действие, стимулируя формирование в селезенке антителообразующих клеток при различных сдвигах в иммунной системе, вызываемых стрессорными воздействиями (тимэктомия, гепатэктомия или их сочетание). Эта особенность этомерзола в сочетании с отсутствием влияния на иммунный статус интактных животных дает основание предполагать преобладание у препарата иммуномодулирующих свойств.

Ключевые слова: этомерзол, тимоген, регенерация печени, иммуномодулирующий эффект

ВВЕДЕНИЕ

Важная роль иммунной системы в процессах регенерации печени [1 – 3], наличие у отдельных гепатопротекторов иммуномодулирующей активности [8, 10], обнаружение у пептидных препаратов тимуса способности ускорять восстановление функциональной полноценности печени после частичной гепатэктомии [7] позволило предположить, что репаративно-регенераторные эффекты актопротектора этомерзола и иммуномодулятора тимогена могут реализоваться через определенные звенья иммунной системы, в частности, через тимус.

Целью настоящей работы явилось определение иммунных механизмов в реализации гепатопротекторных эффектов этомерзола и тимогена.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 500 белых крысах-самцах линии Вистар массой 130 – 200 г. Животных делили на три группы: интактные; получавшие физиологический раствор (контрольная группа); получавшие один из исследуемых препаратов (опытная группа). Второй и третьей группам за 15 дней до частичной гепатэктомии выполняли тимэктомию. Оперативные вмешательства проводили под эфирным наркозом.

В качестве модели регенерации печени избрана частичная гепатэктомия (ЧГЭ) по G. M. Higgins и R. M. Anderson [12]. Эта модель позволяет достигать максимальной стимуляции пролиферации гепатоцитов. После ЧГЭ животных делили на равные опытные и контрольные группы по 6 – 10 крыс в каждой. Контрольной группе инъецировали физиологический раствор, опытной вводили один из исследуемых препаратов. Этомерзол использовали в дозе 12,5 – мг/кг в сутки [4], тимоген — 15 мкг/кг в сутки [11]. Препараты вводили в день операции и в последующем в течение 4 дней, так как наибольшая активность процессов синтеза белка и нуклеиновых кислот наблюдается до 4-го дня после ЧГЭ [9]. На 7-е сутки после ЧГЭ брали материал для исследования. Схема эксперимента представлена в табл. 1.

На автоматических биохимических анализаторах “SMA-12/16” (“Technicon instruments corporation”, США) и

“Abbot-spectrum” (“Abbot laboratories s.a.”, США) определяли в сыворотке крови концентрацию аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаргатаминотрансферазы (АсАТ), общего белка (ОБ), общего билирубина (ОБил), гаммаглутамилтранспептидазы (ГТТП) и глюкозы. Для оценки степени восстановления функциональной активности печени в эти же сроки определяли продолжительность гексеналового сна (ГС), отражающую состояние микросомальной системы печени, метаболизирующей ксенобиотики. Гексенал вводили внутривенно в дозе 80 мг/кг [14].

Для моделирования угнетения Т-системы иммунитета у крыс использовали метод, предложенный С. Г. Гасановым [5] в модификации. Для дальнейших экспериментов животных брали через 15 дней, так как, по данным литературы, за это время изменения в организме, вызванные хирургическим вмешательством, нивелируются [6]. Для оценки иммунобиологического действия исследуемых препаратов использовали интегративную методику, позволяющую оценить кооперативный ответ Т- и В-систем на тимусзависимый антиген - метод локального гемолиза в геле, предложенный N. K. Jerne и A. A. Nordin [13] в модификации. Крыс линии Вистар иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) в дозе $2,5 \cdot 10^9$ в объеме 0,5 мл в вену хвоста. Одновременно подкожно вводили исследуемые препараты. Дозу ЭБ для иммунизации животных подбирали экспериментально с таким расчетом, чтобы вызвать первичный иммунный ответ средней силы. Животных предварительно делили на четыре группы, в каждой было три подгруппы (крысы, получавшие физиологический раствор, тимоген или этомерзол). Животным первой группы за 15 сут до иммунизации ЭБ выполняли тимэктомию; второй — после выполненной тимэктомии через 15 дней одновременно с иммунизацией производили частичную гепатэктомию. У крыс третьей группы иммунизацию выполняли сразу после удаления 2/3 печени. Четвертую группу составляли интактные животные. На 7-е сутки после иммунизации животных забивали и брали 150 мг селезенки для гомоге-

Таблица 1. Схема эксперимента по оценке влияния тимогена и этомерзола на регенерацию печени на фоне тимэктомии

День эксперимента	Выполняемые манипуляции	Интактная группа	Контрольная группа	Опытная группа
1-й	Тимэктомия	–	+	+
16-й	ЧГЭ	–	+	+
16-й – 19-й	Введение препаратов	–	+	+
23-й	Взятие материала	+	+	+

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. П. Д. Шабанов) Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, 6.

низации. Выделенные спленоциты подсчитывали и определяли их жизнеспособность методом прижизненной окраски трипановым синим, затем смешивали и культивировали в агарозном геле с гомологичным антигеном (ЭБ). Подсчитав число зон гемолиза в геле, определяли, сколько антителообразующих клеток (АОК) приходится на 10^6 ядродержащих клеток. Схема эксперимента представлена в табл. 2.

Результаты исследований статистически обработаны на персональном компьютере IBM PS/AT методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ "Statgraphics".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения препаратов на модели частичной гепатэктомии после тимэктомии представлены в табл. 3. Установлено, что в контрольной группе по сравнению с интактными животными концентрация АлАТ оказалась выше в 1,38, АсАТ — в 1,17 и ГТТП — в 4,34 раза. Значительно снижалось количество ОБ в сыворотке крови — в 1,42 раза. В 1,46 раза возрастало содержание ОБ ил. Резко увеличивалась продолжительность ГС — в 4,18 раза по сравнению с интактной группой.

На фоне тимэктомии гепатопротективный эффект исследуемых препаратов оказался значительно сниженным. Под влиянием этомерзола обнаруживалась лишь тенденция к изменению содержания АлАТ, АсАТ и ГТТП в сыворотке крови, т.е. практически отсутствовало действие препарата на показатели цитолитического синдрома. Незначительно (в 1,08 раза) сократился ГС (по сравнению с контролем). Возросла только концентрация ОБ в плазме крови — в 1,25 раза. Тимоген оказывал определенное влияние на показатели цитолиза гепатоцитов — концентрация ГТТП в крови у крыс уменьшилась в 1,63 раза. На содержание ОБил в сыворотке крови препараты практически не оказывали влияния.

Эти результаты свидетельствуют, что, репаративный эффект этомерзола в значительной мере связан с воздействием на Т-систему иммунитета, в первую оче-

Таблица 2. Схема эксперимента по оценке иммунобиологического действия тимогена и этомерзола

День эксперимента	Выполняемые манипуляции	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа
1-й	Тимэктомия	+	+	—	—
16-й	Иммунизация	+	+	+	—
16-й	ЧГЭ	—	+	+	—
16-й – 19-й	Введение препаратов	+	+	+	—
23-й	Взятие материала	+	+	+	+

редь на тимус (удаление этого органа приводит к уменьшению эффекта препарата). Очевидно, основу гепатопротективного эффекта тимогена составляет не прямое действие на гепатоциты, а опосредованное, через лимфоидное звено иммунной системы, о чем свидетельствует значительное снижение его гепатотропной активности после тимэктомии и отсутствие влияния на продолжительность гексеналового сна.

Описанные данные позволили предположить наличие у этомерзола собственной иммунобиологической активности. Проведенными экспериментами показано, что тимоген и этомерзол оказывают иммуномодулирующее действие при различных сдвигах в иммунной системе, вызываемых тимэктомией, гепатэктомией или сочетанием этих факторов. Полученные данные представлены в табл. 4.

Тимоген и этомерзол соответственно в 1,45 и 2,23 раза увеличивают количество АОК в селезенке животных, подвергнутых тимэктомии с последующей частичной гепатэктомией, по сравнению с животными, которым вводили физиологический раствор.

Аналогичная картина наблюдалась и тогда, когда экспериментальным животным удаляли только 2/3 пе-

Таблица 3. Влияние этомерзола и тимогена на показатели состояния печени после частичной гепатэктомии на фоне тимэктомии ($X \pm m_x$).

Показатель	Интактные животные	Оперированные животные		
		контроль	этомерзол, 12,5 мг/кг	тимоген, 15 мкг/кг
Аланинаминотрансфераза, нмоль/(с · л)	39,30 ± 9,45	54,16 ± 4,65*	45,50 ± 3,32	52,16 ± 5,24
Аспаратаминотрансфераза, нмоль/(с · л)	135,30 ± 4,84	158,95 ± 8,86	168,29 ± 5,36	157,0 ± 7,59
Гаммаглутамилтранспептидаза, нмоль/(с · л)	0,50 ± 0,03	2,17 ± 0,12*	1,99 ± 0,13	1,33 ± 0,06**
Общий билирубин, мкмоль/л	3,46 ± 0,13	5,16 ± 0,23*	4,99 ± 0,18	4,89 ± 0,22*
Общий белок, г/л	71,90 ± 1,93	50,51 ± 1,49*	63,21 ± 0,98**	52,85 ± 2,57
Глюкоза, ммоль/л	6,12 ± 0,29	6,50 ± 0,23	5,88 ± 0,26	6,40 ± 0,22
Гексеналовый сон, мин	17,83 ± 1,68	74,50 ± 2,06*	69,21 ± 1,69	62,67 ± 1,43**

Примечание. Отличие достоверно ($p < 0,05$) от показателя: * — интактной группы животных; ** — контрольной группы животных. Контроль — физиологический раствор.

Таблица 4. Влияние тимогена и этомерзола на образование в селезенке крыс после различных травматических воздействий ($X \pm m_x$)

Группа	Контроль	Тимоген, 15 мкг/кг	Этомерзол, 12,5 мг/кг
Интактные крысы	250,1 ± 15,7	217,1 ± 21,2	240,0 ± 18,9
Крысы, подвергшиеся ЧГЭ	96,0 ± 10,7* [#]	168,0 ± 8,4* [#]	308,0 ± 21,1* [#]
Крысы, подвергшиеся тимэктомии	94,0 ± 11,1* [#]	136,0 ± 19,0* [#]	210,0 ± 45,7*
Крысы, подвергшиеся тимэктомии и ЧГЭ	40,0 ± 11,4* [#]	252,0 ± 38,8*	377,0 ± 61,6* [#]

Примечание. Отличие достоверно ($p < 0,05$) от соответствующего: * — контрольного показателя; [#] — показателя интактной группы. Контроль — физиологический раствор.

чени или вилочковой железы. В первом случае введение тимогена или этомерзола повышало количество АОК в селезенке в 1,75 и 3,2 раза, а во втором — в 1,45 и 2,23 раза соответственно по сравнению с группой крыс, получавших физиологический раствор. На содержание АОК у интактных животных изучаемые препараты существенно не влияли.

Можно полагать, что этомерзол и тимоген обладают способностью корригировать иммунопатологические сдвиги, вызываемые в организме удалением вилочковой железы, частичной гепатэктомией или сочетанием этих травмирующих факторов. У этомерзола это свойство в сочетании с отсутствием влияния на иммунный статус интактных животных дает основание предполагать наличие определенных иммуномодулирующих свойств. Это следует считать благоприятным фактором, так как этомерзол не создает потенциальной угрозы возникновения иммунного дисбаланса в случаях применения его у лиц с неизмененным иммунным статусом.

Таким образом, полученные результаты подтверждают имеющиеся в литературе данные о иммунобиологической активности у некоторых актопротекторов и позволяют предположить, что в основе такой активности лежит усиление синтеза протеинов в лимфоидных клетках тимуса. Кроме того, эти данные свидетельствуют о том, что вещества, обладающие иммунотропным действием, могут значительно изменять течение репаративной регенерации печени, ускоряя или замедляя ее.

ВЫВОДЫ

1. Гепатотропные эффекты этомерзола и тимогена в значительной мере опосредованы через активацию иммунной системы, прежде всего тимуса. Позитивное

действие изученных средств на печень при удалении тимуса значительно ослабляется.

2. Этомерзол обладает иммуномодулирующей активностью, которая проявляется определенной нормализацией иммунных реакций, подавленных при тимэктомии и частичной гепатэктомией.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Н. Алексеева, Т. М. Брызгина, С. И. Павлович, Н. В. Ильевич, *Печень и иммунологическая реактивность*, Наукова думка, Киев (1991).
2. А. Г. Бабаева, *Регенерация и система иммуногенеза*, Медицина, Москва (1985).
3. А. Г. Бабаева, Е. А. Зотиков, *Имунобиология процессов адаптивного роста, пролиферации и их нарушений*, Наука, Москва (1987).
4. В. В. Гайворонская, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, СПб (1992).
5. С. Г. Гасанов, Т. С. Якушева, *Пробл. эндокринологии и гормонотер.*, 7(2), 23 – 30 (1961).
6. З. Кемилева, *Вилочковая железа*, Пер. с болг., Медицина, Москва (1984).
7. С. В. Оковитый, В. В. Гайворонская, *Актуальные вопросы клинической и военно-морской медицины*, Вып. 8, 52 (1996).
8. Л. И. Ратникова, В. И. Ратников, *Физиологически активные вещества*, Вып. 25, 27 – 30 (1993).
9. Б. П. Солопаев, *Регенерация нормальной и патологически измененной печени*, Волго-Вят. кн. изд., Горький (1980).
10. Б. С. Утешев, И. Л. Ласкова, *Экспер. и клин. фармакол.*, 59(1), 47 – 50 (1996).
11. В. В. Юшков, В. Х. Хавинсон, *Пат. физиол.*, № 2, 11 – 13 (1993).
12. G. M. Higgins and R. M. Anderson, *Arch. Pathol.*, 12, 188 – 202 (1931).
13. N. K. Jerne and A. A. Nordin, *Science*, 140(3562), 405 (1963).
14. W. C. Verly, *The control of liver growth*, Chalones, New York (1976).

Поступила 24.01.2001

IMMUNE MECHANISMS OF THE HEPATOPROTECTOR EFFECTS OF ETOMERZOL AND THYMOGEN

S. V. Okovityi and V. V. Gaivoronskaya

Department of Pharmacology, St. Petersburg Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044 Russia

The reparation-regeneration effects of the actoprotector etomerzol and the immunomodulant thymogen can be mediated by certain units of the immune system, in particular, by thymus. Both thymogen and etomerzol lose the hepatoprotector activity on the background of thymectomy, but still produce an immunomodulant effect by stimulating the production of antibody-forming cells in the spleen in response to changes in the immune system induced by various stressor factors (thymectomy, hepatectomy, or their combination). This property of etomerzol, together with the absence of influence upon the immune state of intact experimental animals, is evidence of a dominating immunomodulant activity of this drug.