ДОЗОЗАВИСИМЫЙ ПОБОЧНЫЙ ЭФФЕКТ АЛБЕНДАЗОЛА НА РЕАКЦИИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА. СЕЛЕКТИВНЫЙ МЕХАНИЗМ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА 2 (РОНКОЛЕЙКИНА) И АЛБЕНДАЗОЛА

Мамыкова О.И.
ФГБНУ «Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И.Скрябина»

Введение. Изучение направленности иммунобиологического действия комбинации препаратов, включающей албендазол в дозе 75 мг/кг и дополнительное лекарственное средство иммуномодулятор ронколейкин 2 в дозе 10 000 МЕ/кг для устранения нежелательных побочных эффектов антигельминтного препарата и повышения эффективности лечения, выявило подавление функциональной активности эффекторных клеток гиперчувствительности замедленного типа, реализующих реакции клеточного типа. Кроме того, не удалось достигнуть значимого потенцирования антигельминтного действия албендазола, несмотря на высокий протективный эффект ронколейкина 2 при введении на кишечной стадии развития *Trichinella spiralis* [1, 2]. В связи с этим, исследования предприняты с целью выявления возможной зависимости иммунотропных эффектов албендазола от дозы препарата, а также оценки уровня клеточного и гуморального иммунного ответа при совместном назначении албендазола в терапевтической дозе и ронколейкина 2 для получения комбинации препаратов с селективным механизмом комбинированного действия.

Материалы и методы. В экспериментах использовали 60 самцов белых беспородных мышей и 80 самцов мышей линии СВА весом 18-20 г. В работе применяли антигельминтное средство албен 20 % – гранулированную лекарственную форму албендазола (5-(пропил-тио)-1-п-бензимидазол-2-ил-карбамат) с содержанием 200 мг действующего вещества в 1 г гранулята. При изучении зависимости «эффект – доза» албендазол применяли перорально однократно в диапазоне доз 2,5; 3,8; 5,0; 10,0 мг/кг. Албендазол вводили также в дозе 75 мг/кг перорально двукратно. Антигельминтное средство вводили в желудок с помощью пищеводного зонда в виде водной суспензии.

В качестве дополнительного лекарственного средства использовали иммуномодулятор ронколейкин 2 инъекционный с содержанием в 1 см^3 50 000 МЕ рекомбинантного интерлейкина 2 человека (ИЛ2). Активной субстанцией ронколейкина 2 является рекомбинантный интерлейкин 2 – полипептид с молекулярной массой 15,4 кДа. Экзогенный ИЛ2 воздействует на Т-лимфоциты, усиливая пролиферацию и последующий синтез ИЛ2, увеличивает выработку α, β и γ-интерферонов. Иммуномодулятор применяли двукратно с интервалом 24 часа подкожно в область шейной кожной складки

в дозе 10 000 МЕ/кг. Препараты и их комбинацию вводили по схеме соответствующей клиническому применению

Клеточный иммунитет при введении фармакологических средств и их комбинации оценивали на основе тестирования клеток-эффекторов гиперчувствительности замедленного типа в реакции гиперчувствительности замедленного типа (рГЗТ), которую воспроизводили по методу Kitamura [4].

О состоянии гуморального иммунитета судили по уровню антителопродукции на тест-антиген (нативные эритроциты барана – ЭБ). Препараты и их комбинации вводили в индуктивную фазу иммунного ответа. Титр гемагглютининов определяли в реакции прямой гемагглютинации (РГА) [5]. Титр антител выражали в виде log ½ числа. Для сравнения выраженности иммунного ответа в опыте и контроле определяли индекс действия препарата (ИД) [3]. Результаты эксперимента обрабатывали с помощью программы STUDENT 200. Достоверность различий между изучаемыми признаками определяли посредством t критерия Стьюдента при уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение. В ходе эксперимента выявлены различия в интенсивности формирования клеточной реакции при введениии различных доз албендазола. Статистически достоверное подавление функциональной активности эффекторных клеток ГЗТ вызывал албендазол в дозах 2,5мг/кг на 55,62 % (5,96±2,51 %). Препарат в дозе 3,8 мг/кг подавлял активность клеточной реакции на 41,5 %, однако наблюдаемый эффект статистически недостоверен. Увеличение дозы антигельминтного препарата приводило к ослаблению негативного влияния албендазола на клеточный иммунитет. Введение албендазола в дозе 5,0 и 10,0 мг/кг вызывало подавление формирования клеточной реакции ГЗТ на 35,44 и 37, 9 % соответственно. Дальнейшее увеличение дозы препарата и кратности введения приводило к отмене нежелательных побочных эффектов на клеточный иммунитет. Двукратное введение 75 мг албендазола на кг массы тела не вызывало сдвига индекса реакции ГЗТ. Разница в средних значениях индексов рГЗТ при введении албендазола (9,70±2,77%) и в контроле (13,4±2,26%) составила 27,7%. Следовательно, можно заключить, что албендазол в дозе 75 мг/кг при двукратном введении не обладает иммунотропной активностью в отношении клеточного иммунитета.

Для получения оптимальной в иммунологическом отношении комбинации препаратов в дальнейших исследованиях антигельминтный препарат использовали в дозе 2,5 мг/кг, которая обладала наиболее выраженным иммуносупрессивным действием на клеточный иммунитет, и снижала интенсивность реакций клеточного типа на 48,3%.

Подавление функциональной активности клеток эффекторов ГЗТ на 40,8% отмечено также у животных, получивших двукратные инъекции ронколейкина 2 в дозе 10 000 МЕ/кг. Эффект подавления статистически недостоверен ($p>0,05$). Ронколейкин 2 в дозе 10 000

МЕ/кг при введении интактным животным обладал свойствами, характерными для иммуномодулятора, проявляющего свое иммунобиологическое действие только в условиях иммуносупрессии иммунной системой.

Последовательное применение ронколейкина 2 и албендазола в терапевтической дозе 2,5 мг/кг обеспечивало восстановление клеточной реакции ГЗТ, ингибированной албендазолом. Комбинация препаратов вызывала сдвиг индекса реакции, превышающий таковой на 37,8 % при изолированном введении албендазола в терапевтической дозе. Таким образом, комбинация ронколейкина 2 и албендазола в дозе 2,5 мг/кг стимулирует клеточный иммунитет, и является рациональной в отличие от комбинации, включающей албендазол в дозе 75 мг/кг. Таким образом, показано, что для получения стойкого стимулирующего эффекта препараты, входящие в комбинацию, должны обладать разнонаправленным механизмом иммунобиологического действия.

Тестирование способности организма экспериментальных животных к синтезу антител против тест-антигена (ЭБ) не выявило каких-либо изменений интенсивности антителопродуции при пероральном однократном введении албендазола в терапевтической дозе 2,5 мг/кг и иммуномодулятора ронколейкина 2 в дозе 10 000 МЕ/кг, инъецированного подкожно двукратно. По данным РГА, титр антител отличался от показателя контроля на 7,54 и 9, 43% соответственно. Индексы действия, равные 0,92 и 0,90, также указывали на толерантность гуморального иммунитета к действию препаратов в испытанных дозах. Комбинация препаратов, включающая иммуномодулятор ронколейкин 2 и албендазол, статистически достоверно подавляла антителообразование на 22,8% ($p < 0,05$ относительно контроля). Индекс действия комбинации препаратов составил 0,77. Таким образом, комбинация препаратов подавляла функциональную активность Т-хелперной популяции иммунокомпетентных клеток в отношении тимусзависимого антигена.

Заключение. Установлена терапевтическая доза албендазола, равная 2,5 мг/кг, которая вызывает подавление функциональной активности эффекторных клеток гиперчувствительности замедленного типа. Иммунобиологическое действие албендазола в отношении клеточного иммунитета носит дозозависимый характер, и ослабевает с увеличением дозы препарата. Таким образом, установлена обратная зависимость эффекта подавления иммунных реакций клеточного типа от дозы албендазола.

Комбинация препаратов, включающая ронколейкин 2 в дозе 10 000 МЕ/кг и албендазол в терапевтической дозе 2,5 мг/кг, обладает селективным механизмом иммунобиологического действия, направленным на стимуляцию иммунных реакций клеточного типа и подавление Т-клеточно-опосредованного гуморального иммунного ответа. Комбинацию препаратов следует считать рациональной,

поскольку в условиях поляризации иммунного ответа при паразитарных болезнях в сторону иммунных реакций гуморального типа, имеет значение целенаправленная модуляция клеточного иммунитета, который нуждается в фармакологической коррекции. Показано, что стойкий стимулирующий эффект могут обеспечить лекарственные препараты с разнонаправленным механизмом иммунобиологического действия.

Литература: 1. Мамыкова О.И.// Теоретические и практические проблемы паразитологии. Мат. Межд. науч. конф., 30 ноября - 3 декабря 2010 г. Москва. – М., 2010. – С. 219 – 222. 2. Мамыкова О.И. //Сб. мат. науч. конф. « Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» М., 2013. –Вып. 14. – С. 218-221. 3. Рубцова Е.Р., Подымова Н.Г. // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 3. – С. 74- 77. 4. Kitamura K.A. // Immunol. Methods. – 1980. – V. 39, N 3. – P. 277-283. 5. Sever J. L. //J. Immunol. – 1962. – V. 88, N 1. – P. 398-413.

Dose-dependent adverse effect of albendazole on cell immunity reactions. Selective mode of immunobiological action of combination of recombinant interleukin 2 (ronkoleukin) and albendazole. Mamikova O.I. All-Russian K.I. Skryabin Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants.

Summary. Immunobiological action of albendazole on cell immunity is dependent on dose and reduces in accordance with increase of agent’s dose. The negative correlation has been established between inhibition of immune reactions of cell type and agent’s dose level. Combination of ronkoleukin 2 at dose level of 10000 IE/kg and albendazole at the therapeutic dose of 2,5 mg/kg of body weight shows the selective mode of immunobiological action aimed on stimulation of immune reactions of cell type and inhibition of T-cell-mediated humoral immune response.