5. *Девяткина Т. А., Бобырев В. Н., Устянская Т. И. и др.* Сезонная и возрастная динамика обеспеченности человека витаминами антиоксидантного действия // Актуальные пробемы витаминологии: Тез. Всесоюз. конф., т.3. — М., 1978. — С. 43-44.
6. *Журавлев А. И.* Развитие идей Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и при патологии. — М.: Наука, 1982. — С. 3-36.
7. *Котовщикова А. М., Блексмит З. Д.* К методике определения ретракции кровяного сгустка // Пробл. гематологии. —1957. — N3. — С. 53-55.
8. *Кузник Б. И., Короткова А. П.* Упрощенные методы изучения тромбоцитарных факторов свертывания крови // Лаб. дело. — 1969. —- N1. — С. 46-50.
9. *Люсов В. А., Белоусов Ю. Б., Савенков М. П.* К методу определения агрегации тромбоцитов и эритроцитов // Там же. — 1976. — N8. — С. 463-468.
10. *Мищенко В. П., Крохмаль Н. В., Надутый К. А.* Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. журн. — 1980. — N2. — С. 282-283.
11. *Мищенко В. П., Звягольская И. Н., Сорокина С. И.* Функциональные свойства тромбоцитов и антиагрегационная активность сосудистой стенки у здоровых людей в различные сезоны года // Гематология и трансфузиология. — 1986. — N8. — С. 43-46.
12. *Jager F. C.* Determination of vitamin E reguirement in rats by means of spontaneous haemolysis in vitro // Nutr. et Diets. — 1968. — 10, N3. —P. 215-223.

Полтав. мед. стомат. ін-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 09.12.91

УДК 612.017.1-014.46

М. А.Чейдо, Г. В.Идова, О. С.Папсуевич

Центральный механизм иммуномодулирующего действия вазопрессина и его структурных аналогов

На мишах in vivo досліджена імуномодулююча активність [8-аргінін]вазопресину (АВП) та його аналогів — дез-9-гліцінового вазопресину (ДГ-АВП) і тетрапептиду АВП-(2-5). Якщо введення АВП (0,0001,0,01 і 0,1 мк/кг) та ДГ-АВП (1 мг/кг) призводить до значного підвищення числа розеткоутворюючих клітин порівняно із контролем, то введення тваринам АВП-(2-5) викликає глибоку імуносупресію за всіх використовуваних доз. Виявлено, що стимулюючий вплив нейропептидів на імуногенез обумовлений їхнею взаємодією з допамінергічною системою, а імуноінгібуючий ефект — взаємодією із серотонінергічною. Можна гадати, що взаємодія відбувається у мозку, оскільки пересікання ніжки гіпофіза знімає інгібуючий та стимулюючий ефекти нейропептидів та імунну відповідь.

Введение

В настоящее время внимание к вазопрессинам вызвано тем, что они не только являются стимуляторами высших интегративных функций мозга [4,15], но и играют модулирующую роль в иммунном ответе [6,7]. Известно, что пептиды могут оказывать влияние на ауторегуляцию иммуногенеза, в которой значительная роль принадлежит антигенспецифическим (АГ-специфическим) и АГ-неспецифическим супрессорным клеткам [14]. Изучение нами вклада клеточных компонентов в реализацию иммуносупрессивного действия тетрапептида возопрессина показало участие в этом процессе АГ-неспецифических клеток-супрессоров тимуса [10]. Тем не менее, до настоящего времени практически не ясны центральные механизмы, с помощью которых вазопрессины реализуют свое влияние на иммуногенез, что и определяет цель нашего исследования.

Методика

В опытах использовали 200 мышей-самцов линии СВА массой 22- 25 г. Всего проведено 22 серии экспериментов (в том числе и контрольная). АВП и его синтетические аналоги — ДГ-АВП и АВП-(2-5) — получены в Институте органического синтеза АН Латвии. Все вещества вводили за 30 мин до иммунизации эритроцитами барана (ЭБ, внутрибрюшинно $5 \cdot 10^6$ в 0,2 мл физиологического раствора). Блокатор С-2 серотониновых рецепторов ципрогептадин (фирма «Serva», Германия) применяли в дозе 30 мг/кг, блокатор допаминовых рецепторов галоперидол (ГП, фирма «Gedeon» Richter A. O., Венгрия) — в дозе 5 мг/кг. При совместном введении вещества интервал между введениями составлял 10 мин. Эффект пептидов на иммунный ответ оценивали по числу розеткообразующих клеток (РОК) в селезенке каждой мыши на 5-е сутки исследования [2]. Участие гипофиза в иммуномодулирующем действии пептидов изучали на мышах с пересеченной ножкой гипофиза. Операцию проводили под нембуталовым наркозом трансаурикулярно. Точность разрушения ножки гипофиза оценивали визуально после декапитации животных. Контролем в этом случае служили мыши с пересеченной ножкой гипофиза, получавшие физиологический раствор. Статистическую обработку результатов проводили с применением критерия t Стьюдента. Достоверными считали различия при $P<0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты, представленные в табл. 1, показывают, что исследованные пептиды обладают выраженным иммуномодулирующим влиянием, которое носит дозозависимый характер. Наиболее сильный, стимулирующий иммуногенез эффект во всех используемых дозах отмечается у АВП. При этом

Т а б л и ц а 1. Ответная иммунная реакция организма мышей на введение различных доз вазопрессина и его аналогов ($M \pm m$)

Показатель	Физиологический раствор (контроль)—2мл	[8-Аргинин] вазопрессин (АВП)			Дез-9-глицин-АВП				АВП - (2—5)		
		0,001 мг/кг	0,01 мг/кг	0,1 мг/кг	0,001 мг/кг	0,01 мг/кг	0,1 мг/кг	1,0 мг/кг	0,001 мг/кг	0,01 мг/кг	0,1 мг/кг
Число розеткообразующих клеток, приходящихся на 10^3 клеток селезенки	14,3 ± 0,8	32,6 ± 1,1	20,5 ± 0,8	18,6 ± 0,7	12,5 ± 1,0	15,7 ± 0,6	17,1 ± 3,2	32,5 ± 2,6	6,7 ± 0,8	5,7 ± 1,0	7,4 ± 0,8
Коэффициент достоверности (Р) отличия значений показателя при введении физиологического раствора и при введении соответствующего вещества	—	<0,001	<0,001	<0,02	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

П р и м е ч а н и я: здесь и в табл. 2, 3 в каждой серии опытов было не менее 10 животных; в контроле животные получали растворитель в том же объёме и по той же схеме, что и пептиды.

низкие дозы увеличивают число РОК по сравнению с контролем более чем в 2 раза, по мере повышения дозы эффект стимуляции иммуного ответа снижается. Зависимость направленности эффектов АВП от используемой дозы показан также в поведенческих опытах [11].

Фармакологический интерес представляет изучение иммуномодулирующего влияния синтетических биологически активных аналогов вазопрессина, различных по структуре,длительно действующих и устойчивых к распаду. При введении мышам ДГ АВП (в структуре которого нет аминокислоты глицина) в тех же дозах, что и АВП, число РОК лишь соответствовало значению этого показателя у контрольных животных. И только увеличение дозы ДГ АВП до 1 мг/кг привело к резкому усилению иммунного ответа. Полученные результаты согласуються с данными других исследований, показавших иммуностимулирующие свойства вазопрессина и его аналога в системе in vitro [6]. Известно, что ДГ АВП, обладая низкой гормональной активностью, оказывает активизирующее воздействие на поведение, обучение и память [4, 13]. Есть сведения [5], свидетельствующие, что АВП и его аналоги, стимулирующие эти процессы, также являются иммуностимуляторами. В отличие от ДГ АВП, тетрапептид вазопрессина оказывает глубокое супрессорное действие на имунный ответ во всех применяемых дозах (см. табл. 1).

Существует представление о том, что свое регуляторное влияние пептиды оказывают через медиаторные системы мозга, в частности допамин- и серотонинергическую системы [3], которые, как известно, принимают участие в нейроиммуномодуляции. Активация допаминергической системы приводит к усилению активности иммунной системы, а серотонинергическая система в иммуномодуляции является ингибирующей [1]. При выявлении участия этих систем в реализации действия исследуемых пептидов на иммунный ответ показано, что стимулирующее действие, в частности вызванное введением АВП, является допаминзависимым. Введение пепдида на фоне блокады постсинаптических допаминовых рецепторов галоперидолом препятствует повышению числа РОК (табл. 2). В то же время предва-

Таблица 2. Изменение ответной иммунной реакции организма мышей на действие [8-аргинин] вазопрессина (АВП) по его аналога АВП-(2—5) под влиянием галоперидола и ципрогептадина

Показатель реакции	Физиологический раствор (контроль)—2 мл	АВП (0,001 мг/кг)	Галоперидол (5 мг/кг)	Галоперидол и АВП	АВП-(2—5) (0,01 мг/кг)	Ципрогептадин (30 мг/кг)	Ципрогептадин и АВП-(2—5)
Число розеткообразующих клеток, приходящееся на 10^3 клеток селезенки	13,4 ±1,1	32,6 ±1,1	6,8 ±0,8	10,4 ±1,4	5,7 ±1,0	25,4 ±1,0	16,7 ±1,0
Коэффициент достоверности (Р) отличия значений показателя при введении физиологического раствора и при введениисоответствующего вещества		<0,001	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	>0,05

рительное введение мышам блокатора серотоновых рецепторов типа С-2, в частности ципрогептадина, предотвращает ингибирующее влияние АВП-(2-5) на разеткообразование, что свидетельствует о серотонинзависимости эффекта этого пептида. Можно полагать, что при введении пептидов, стимулирующих иммуногенез в исследуемом диапазоне доз, активируется (возможно, частично) допаминергическая система, а при введении иммуноингибирующих пептидов — серотонинергическая.

Известно, что исследование роли АВП в иммунных процессах началось после открытия рецепторов нейропептида на моноклональных фагоцитах человека [9]. В настоящее время рецепторы в обнаружены в различных структурах мозга[8, 12].

Результаты, полученные нами в экспериментах на мышах с разрушением ножки гипофиза и последующим введением либо ДГ АВП либо АВП-(2-5), показывают, что выявленное взаимодействие с указанными нейромедиаторными системами происходит в мозгу (табл. 3). Так, у опериро-

Т а б л и ц а 3. Участие гипофиза в иммуномодулирующем действии пептидов у мышей (М ±m)

Показатель	Физиологический раствор (2мл)	Гипофизэктомия (ГЭ) и физиологический раствор (контроль)	Дез-9-глицин-вазопрессин (ДП-АВП; 1,0 мг/кг)	ГЭ и ДП-АВП	Тетрапептид АВП-(2—5) (0,01 мг/кг)	ГЭ и АВП-(2—5)
Число розеткообразующих клеток, приходящееся на 10^3 клеток селезенки	20,1 ±1,1	19,9 ±1,2	32,0 ±2,1	16,5 ±1,1	10,7 ±0,6	21,5 ±0,9
Коэффициент достоверности (Р) отличия значений показателя при введении физиологического раствора исоответствующего вещества		>0,05	<0,001	=0,05	<0,001	>0,05

П р и м е ч а н и е. Пептиды и растворитель вводили за 30 мин до иммунизации мышей эритроцитами барана ($5 \cdot 10^6$).

ванных мышей иммуностимулирующее влияние ДГ-АВП не обнаруживается: число РОК соответствует значению этого показателя у мышей, не получивших пептид. У таких животных не наблюдалось также и угнетения иммуного ответа, вызванного введением АВП-(2-5). Следует отметить, что сама по себе операция не повлияла на число РОК. Следовательно, пересечение связи между гипоталамусом и гипофизом предотвращает эффект пептидов на иммунный ответ. Это свидетельствует об участии гипоталамо-гипофизарного комплекса в реализации иммуномодулирующего действия вазопрессинов.

Таким образом, исследованные пептиды, оказывающие нейромодулирующее действие, способны в значительной мере (в зависимости от дозы) влиять на интенсивность иммунного ответа. АВП и его дез-9-глициновый аналог обладают выраженным иммуностимулирующим эффектом, который является допаминзависимым, а глубокая супрессия иммуного ответа, вызываемая тетрапептидом АВП-(2-5), обусловлена взаимодействием с другой нейромедиаторной системой — серотонинергической. Полученные результаты свидетельствуют о роли вазопрессинов в качестве иммуномодуляторов. Их иммуномодулирующий эффект реализуется через центральные механизмы, а именно через гипоталамо-гипофизарный комплекс.

M.A.Cheido,G.V.Idova,O.S.Papsuevich

THE CENTRAL MECHANISM
OF IMMUNOMODULATIONG ACTION
OF VASOPRESSION AND ITS ANALOGUES

It is shown that the effect of neuropeptides depends on the dose and their structure. Considerable immunostimulation is observed after administration of [8-arginine]vasopressin and des-9-glucine-[8-arginine]vasopressin as against the control. This stimulation is prevented by the preliminary heloperidol blockade of dopaminergic receptors, i.e. it is dopamine-dependent. At the same time, injection of tetrapeptide vesopressin-(2-5) induces deep immunosuppression in all the applied doses. The peptide immunosuppression is shown to be a result of interaction with another neuromediator (serotoninergic); it has no effect under preliminery cuproheptadine blockade of C-2 serotonin postsunaptic receptors. The immunomodulationg effect of the neuropeptides studied is central one and is realized via the hypothalamus-hypophysis complex.

Institute of Physiology,
Siberian Branch of Medical Sciences of Russian Federation, Novosibirsk

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Девойно Л. В., Ильюченок Р. Ю.* Моноаминергические системы в регуляции иммуных реакций. -Новосибирск: Наука,1983.-206 с.
2. *Идова Г. В., Чейдо М. А., Девойно Л. В.* IgM- и IgC-розеткообразование в первичном и вторичном иммунном ответе в системе сингенного переноса клеток селезенки// журн.микробиол.-1976.-№ 2.-с.57-60.
3. *Клуша В. Е.* Пептиды - регуляторы функций мозга.-Рига: Зинатне, 1984.- с.187.
4. *Кругликов Р. И., Орлова Н. В., Бикбулатова Л. С. и др.* Влияние различных аналогов вазопрессина на процессы обучения и памяти и метаболизм РНК в мозге крыс//Изв. АН ЛатвССР.-1986.-№ 2.-с.81-86.
5. *Папсуевич О. С.* Синтез, структура и функции нейропептидов - модуляторов обучения и памяти: Автореф.дис...д-ра хим. наук.-Рига,1989.-48 с.
6. *Папсуевич О. С., Индулен Ю. И., Чипенс Г. И.* Стимулирование фагоцитарной функции макрофагов нейропептидами обучения и памяти// Иммунология.- 1985.- № 4.- с.772-73.
7. *Папсуевич О. С., Чипенс Г. И., Михайлова С. В.* Нейрогипофизарные гормоны.-Рига: Зинатне.- 283 с.
8. *Antoni F. A.* Novel ligand specificity of pitutary vasopressin receptors in the ret//Neuroendocrinology.-1984.-39.-P.186-188.
9. *Block L. H., Locher R., Fenschert W. et al.* 125-J-8-Arginine vesopressin binding to human mononuclear phagocytes// Clin.J. Invest.-1981.-68, N 2.-P.374-381.
10. *Devoino L., Idova G., Chelido M. et al.* Low molecular weightpeptides in neuroimmunomodulation: Central effect and interaction with monoamine systems//Ann.N.Y.Acad.Sci.- 1990.-594.-P.415-417.
11. *Hegan J. J., Bohus B., de Wied D.* Post-training vasopressin ingections may facilitate a delay shuttle — box avoidance extinction //Behav.Neural.Biol.-1982.-36.-P.211.
12. *Petracca F. M., Baskin D. G.,Dorsa D. H.* Autoradiographic localization of vasopressin binding in the rat brain// Soc.Neurosci.Abstr.-1983.-9,Part 2.-P.1206.
13. *Pietrowsky R., Born J., Fehm-Wolfsdorf G., Fehm H. L.* The influence a vasopressin — analogue (DGAVR) on event-related potentials in a stimuls-mismatch paradigm//Biol.Psychol.-1989.-28.-P.239-250.
14. *Savsgeau M. A.* Regulation of diferentiated cell-specific functions//Proc.Natl Acad Sci.USA.-1983.-80.-N 5.-P.1411- 1415.
15. *Wingartner A., Gold P., Ballengers J. C. et al.* Effects of vesopressin on humen memory functions//Science.-1981.- 211.- P.601.

Институт физиологии Сибир.отделения
АМН Российской Федерации, Новосибирск

Материал поступил
в редакцию 20.01.92