

Изменение уровней аутоантител к нейрорецепторам в сыворотке крови и ткани головного мозга крыс в динамике при хроническом введении бромокриптина

Мария Владимировна Батурина^{1,2}✉, Екатерина Владимировна Грудина²

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

² Центр клинической фармакологии и фармакотерапии, Ставрополь, Россия

Аннотация. Опыты были выполнены на 46 белых лабораторных крысах самцах линии Wistar с массой тела 250–280 г. Животным внутривенно ежедневно в течение 28 суток вводили бромокриптин в дозе 1 мг/кг и, в качестве контроля, физиологический раствор. У животных, получавших бромокриптин, было обнаружено накопление по сравнению с контрольными животными аутоантител в сыворотке крови и в ткани головного мозга к нейрорецепторам: NMDA (субъединицы NR1, NR2A, NR2B) и к дофаминовым рецепторам первого и второго типов (DR1 и DR2). При этом содержание аутоантител в головном мозге было существенно ниже. Высокие уровни аутоантител были выявлены через 2 и 4 недели от начала иммунизации животных. После завершения хронического введения бромокриптина высокий уровень аутоантител сохранялся через 3 и 7 суток после последнего введения препарата. Через 14 дней после завершения инъекций содержание аутоантител в крови и головном мозге существенно снизилось. В группе крыс, у которых определяли аутоантитела через 4 недели после завершения инъекций, их уровень не отличался от значений у контрольных животных. Было обнаружено увеличение аутоантител к белку S100B. Уровни аутоантител к белку S100B в сыворотке крови имели положительную умеренную связь с содержанием в ткани мозга аутоантител к NR2A, NR2B и к DR2. При этом корреляционных связей с уровнями ААТ к нейрорецепторам в крови не обнаруживалось.

Ключевые слова: бромокриптин, крысы, аутоантитела, NMDA рецепторы, дофаминовые рецепторы, белок S100B

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания АААА-А19-119010900 193-6, финансировалось Ставропольским государственным медицинским университетом.

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2024-21-3-99-103>

Changes in the autoantibodies levels to neuroreceptors in the blood serum and brain tissue of rats during chronic administration of bromocriptine

Maria V. Baturina^{1,2}✉, Ekaterina V. Grudina²

¹ Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

² Center of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Stavropol, Russia

Abstract. The experiments were carried out on 46 white laboratory male rats Wistar with a body weight of 250–280 g. Animals were daily administered intraperitoneally for 28 days with bromocriptine at a dose of 1 mg/kg and, as a control, physiological saline. In animals treated with bromocriptine, an accumulation of autoantibodies in blood serum and in brain tissue to neuroreceptors was found compared to control animals: NMDA (subunits NR1, NR2A, NR2B) and to dopamine receptors of the first and second types (DR1 and DR2). At the same time, the level of autoantibodies in the brain was significantly lower. High levels of autoantibodies were detected after 2 and 4 weeks from the start of immunization of animals. After completion of the chronic administration of bromocriptine, a high level of autoantibodies persisted 3 and 7 days after the last administration of the drug. 14 days after completion of the injections, the level of autoantibodies in the blood and brain decreased significantly. In the group of rats in which autoantibodies were determined 4 weeks after completion of injections, their level did not differ from the values in control animals. An increase of autoantibodies to the S100B protein was found. The levels of autoantibodies to the S100B protein in the blood serum had a positive moderate relationship with the content of autoantibodies to NR2A, NR2B and DR2 in the brain tissue. At the same time, there were no correlations with the levels of ААТ to neuroreceptors in the blood.

Keywords: bromocriptine, rats, autoantibodies, NMDA receptors, dopamine receptors, S100B protein

Funding. The study was carried out within the framework of the state task АААА-А19-119010900 193-6, funded by the Stavropol State Medical University

Ранее нами было установлено, что при хроническом введении агонистов дофаминовых рецепторов – антипаркинсонических средств – у экспериментальных животных в сыворотке крови обнаруживается повышен-

ный уровень аутоантител к дофаминовым и к NMDA рецепторам [1]. При длительном введении антагонистов дофаминовых рецепторов нейролептиков также наблюдается повышение содержания аутоантител к этим же

рецепторам [2]. Интересно, что были установлены корреляционные связи между уровнями аутоантител и выраженностью каталептогенного действия галоперидола, а также изменение поведения крыс в ситуации «открытого поля» [3, 4]. Эти данные позволили предположить, что аутоантитела к нейрорецепторам, с которыми взаимодействуют нейро- и психотропные препараты, вероятно, принимают участие в реализации их специфической активности [5].

Способность аутоантител, циркулирующих в крови, проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и оказывать воздействие на рецепторы мозга обсуждается. Предполагается возможность интратекального образования антител [6, 7]. Сравнительно недавно появилось несколько методически качественно выполненных работ, в которых приводятся данные, подтверждающие, что IgG способны диффундировать в ткань мозга у животных без повреждения гематоэнцефалического барьера [8]. В связи с этим представлялось интересным решить две задачи: выяснить способность аутоантител к нейрорецепторам проникать в ткани головного мозга у животных, а также изучить динамику уровней аутоантител в сыворотке крови и в тканях головного мозга в различные сроки хронического введения бромокриптина – прямого агониста дофаминовых рецепторов 2-го типа.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить изменение уровней аутоантител к нейрорецепторам в сыворотке крови и ткани переднего мозга у крыс при хроническом введении бромокриптина.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты были выполнены на 46 белых лабораторных крысах самцах линии Wistar с массой тела 250–280 г, которые содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище.

Были сформированы 7 групп животных. Крысам контрольной группы (первая группа – 6 крыс) внутривенно вводили физиологический раствор. Остальные животные получали внутривенно бромокриптин в дозе 1 мг/кг: вторая группа (5 крыс) в течение 2 недель ежедневно, третья (5), четвертая (5), пятая (5), шестая (5) и седьмая (15 крыс) группы в течение 4 недель ежедневно.

После завершения инъекций у крыс забирали кровь по следующей схеме: первая группа (контрольная) – через 3 дня после последней инъекции физиологического раствора; вторая группа – на следующие сутки после завершения введения бромокриптина в течение 2 недель; третья группа – на следующие сутки после завершения введения бромокриптина в течение 4 недель; четвертая группа – через 3 суток после последней инъекции в течение 4 недель; пятая группа – через 7 суток; шестая группа – через 14 суток,

седьмая – через 4 недели после последней инъекции бромокриптина.

Кровь забирали в пробирки, отстаивали в течение 30 мин при температуре +37 °С, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 10 мин. Полученные образцы сыворотки хранились в морозильной камере при температуре –40 °С. Животных (под общим обезболиванием препаратом «Золетил») декапитировали и извлекали головной мозг, который отмывали от крови холодным физиологическим раствором в течение 40–50 с, очищали от паутинной оболочки, обсушивали на фильтровальной бумаге и замораживали. Материал до проведения иммунологического тестирования хранился в морозильной камере при температуре –40° С. Перед исследованием на наличие аутоантител (ААТ) передний мозг взвешивали, измельчали и гомогенизировали механически, добавляли охлажденный фосфатно-солевой буферный раствор (рН 7,4) в соотношении ткань : буфер – 1 : 3, перемешивали, осаждали центрифугированием при 3000 об./мин в течение 10 мин. Надосадочная жидкость использовалась для проведения иммуноферментного анализа (ИФА).

Количественное определение уровней аутоантител в сыворотке крови и супернатанте гомогената головного мозга проводили с помощью ИФА. Оценивали концентрацию ААТ (IgG) в сыворотке крови и мозговой ткани к дофаминовым рецепторам 1-го и 2-го типов (DR1 и DR2), а также к NR1, NR2A, NR2B субъединицам NMDA рецептора. Содержание ААТ к белку S100B оценивали в сыворотке крови. На твердой фазе полистироловых планшетов был иммобилизован антиген соответствующего рецептора или белка S100B (Cloud-Clone Corp. – США/КНР). Применялись тест-системы, разработанные ООО НПО «ИммуноТэкс» (Россия). Исследование проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Лазурит» (Dynex Technologies, США) при длине волны 450 нм.

Статистический анализ полученных результатов измерений выполняли с применением прикладных программ STATISTICA (StatSoft Inc., США). Учитывая, что распределения не соответствовали нормальному, по данным критерия Шапиро – Уилка, применяли методы непараметрической статистики.

Исследование выполнялось в соответствии с положениями Женевской конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных» и Хельсинкской декларацией 2000 г. о гуманном отношении к животным, а также Приказа МЗ РФ № 199н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы уровни естественных ААТ в сыворотке крови колебались в пределах 0,8–10,9 Ед/мл, а в ткани мозга – 1,0–1,8 Ед/мл.

Длительное ежедневное введение бромкриптина вызвало выраженное (по сравнению с контролем) нарастание содержания ААТ к нейрорецепторам и в сыворотке крови (табл. 1), и в ткани головного мозга. При этом уровни ААТ в мозговой ткани были на порядок ниже (табл. 2), чем в сыворотке, что можно объяснить функционированием ГЭБ.

Анализ динамики ААТ в сыворотке крови показывает, что их уровень нарастал к концу инъекционной процедуры (4 недели введения) и начинал снижаться через 7 суток, и особенно через 14 суток после последней инъекции бромкриптина. Следует обратить внимание на то, что уровень ААТ к дофаминовым рецепторам начинал снижаться уже через 3 суток после последнего

введения препарата. При этом содержание ААТ к NMDA рецепторам (NR1 и NR2A) в эти сроки еще продолжало нарастать. Через 4 недели после прекращения введения бромкриптина уровень ААТ в сыворотке крови был сопоставим с их содержанием у контрольных животных. Изменение содержания ААТ к белку S100B происходило аналогичным образом: было наибольшим через 4 недели иммунизации и затем постепенно снижалось.

В ткани переднего мозга крыс также обнаруживались высокие, по сравнению с контрольной группой крыс, уровни ААТ и к дофаминовым и NMDA рецепторам. Через 14 суток и через 4 недели после прекращения инъекций бромкриптина в ткани мозга уровни ААТ были сопоставимы с контролем.

Таблица 1

Изменение уровней аутоантител (Ед/мл) к нейрорецепторам и белку S100B в сыворотке крови у крыс [Ме (Q1–3)]

ААТ к мозговым антигенам	2 недели введения	4 недели введения	Через 3 суток после последней инъекции	Через 7 суток после последней инъекции	Через 14 суток после последней инъекции
DR1	164,0 (156,1–169,3)	195,6 (194,3–232,0)	162,5 (140,1–168,8)	126,4 (107,4–161,8)	83,3 (78,6–90,0)
DR2	109,0 (86,7–115,9)	170,2 (169,0–175,2)	136,0 (125,9–149,9)	109,5 (106,0–142,5)	62,6 (56,2–73,1)
NR1	84,6 (82,4–85,5)	151,5 (148,9–180,1)	162,4 (151,7–171,4)	161,8 (134,4–162,6)	68,1 (67,3–85,3)
NR2A	110,6 (105,5–136,6)	168,1 (144,9–173,0)	172,5 (168,0–189,4)	157,0 (150,5–161,7)	86,9 (74,8–87,1)
NR2B	89,1 (80,4–92,2)	178,2 (142,2–178,5)	169,5 (161,6–173,8)	155,2 (151,4–162,4)	60,3 (59,1–70,8)
Белок S100B	69,6 (67,8–71,7)	80,8 (67,7–88,0)	56,3 (50,7–56,4)	67,0 (65,1–69,5)	63,6 (56,3–75,7)

Таблица 2

Изменение уровней аутоантител (Ед/мл) к нейрорецепторам в ткани головного мозга крыс [Ме (Q1–3)]

ААТ мозговым антигенам	2 недели введения	4 недели введения	Через 3 суток после последней инъекции	Через 7 суток после последней инъекции	Через 14 суток после последней инъекции
DR1	12,4 (4,6–12,4)	20,9 (15,6–23,6)	12,4 (7,4–16,7)	11,5 (11,1–11,8)	1,45 (1,37–1,66)
DR2	10,6 (5,4–11,7)	15,6 (8,7–24,9)	7,4 (4,1–8,3)	5,1 (5,0–6,4)	1,8 (1,6–1,97)
NR1	11,4 (11,2–11,6)	11,0 (10,8–17,5)	12,5 (11,9–16,0)	9,4 (4,4–9,5)	1,5 (1,4–1,52)
NR2A	14,9 (14,1–18,0)	19,4 (14,0–23,4)	19,9 (17,1–21,2)	11,7 (9,0–11,8)	1,37 (1,32–1,75)
NR2B	12,1 (10,4–12,6)	12,5 (10,4–13,7)	12,9 (10,1–13,1)	9,1 (7,0–9,9)	1,7 (1,6–1,8)

Корреляционный анализ (по Спирмену) обнаружил, что полного параллелизма между концентрацией ААТ в сыворотке крови и в ткани мозга не прослеживается. Уровень ААТ к NR2A был умеренно связан с содержанием в ткани мозга ААТ к NR1 ($r = 0,4185$; $p < 0,05$), NR2A ($r = 0,4223$; $p < 0,05$), NR2B ($r = 0,4215$;

$p < 0,05$), и заметно с DR2 ($r = 0,5261$; $p < 0,05$). Выявлялась умеренная связь между ААТ к NR2B в сыворотке и содержанием DR2 в ткани мозга ($r = 0,4538$). Содержание ААТ к DR1 в сыворотке было связано умеренно с уровнем в мозге ААТ к NR1 ($r = 0,4215$; $p < 0,05$), NR2A ($r = 0,4969$; $p < 0,05$), заметно с мозговыми ААТ

к NR2B ($r = 0,5592$; $p < 0,05$). Концентрация ААТ к DR2 была заметно связана с содержанием ААТ к этим же рецепторам в мозговой ткани ($r = 0,5769$; $p < 0,05$).

Интересно, что сывороточный уровень ААТ к белку S100B был умеренно связан с содержанием в ткани мозга ААТ к NR2A ($r = 0,4700$; $p < 0,05$), NR2B ($r = 0,4423$; $p < 0,05$) и к DR2 ($r = 0,5030$; $p < 0,05$). При этом корреляционных связей с уровнями ААТ к нейрорецепторам в крови не обнаруживалось.

Таким образом, выполненное исследование подтвердило ранее полученные данные о способности агонистов дофаминовых рецепторов повышать уровень ААТ (IgG) к дофаминовым (DR1 DR2) и к NMDA рецепторам [1, 2]. При этом было установлено, что содержание ААТ в сыворотке крови у иммунизированных животных остается высоким (по сравнению с контролем) через 7 и 14 суток после последней инъекции бромкриптина. Через 4 недели после завершения процедуры иммунизации содержание ААТ в сыворотке крови было таким же, как и у контрольной группы крыс. Важно, что хроническое применение бромкриптина вызывало повышение количества ААТ и ткани головного мозга животных. При этом достаточно высокое содержание ААТ сохранялось в течение 7 суток после последней инъекции препарата. Обнаруженная способность ААТ (IgG) накапливаться в ткани мозга совпадает с наблюдениями других авторов [8]. Это позволяет предположить, что ААТ к нейрорецепторам могут оказывать специфическое воздействие на функцию конкретных рецепторов. Возможно, что после отмены препаратов ААТ какое-то время тоже оказывают свое действие. Интересно, что уровни ААТ к белку S100B коррелировали с содержанием ААТ в ткани мозга, но не в сыворотке крови. Считают, что белок S100B, как и ААТ к нему, является важным маркером повреждений мозга [9, 10]. В связи с этим можно предположить, что накопление ААТ к NMDA рецепторам в ткани головного мозга запускает процесс эксайтотоксичности с последующим освобождением белка S100B и накоплением ААТ к нему в сыворотке крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное введение бромкриптина крысам вызывает нарастание уровней ААТ к NMDA и дофаминовым рецепторам в сыворотке крови и в ткани головного мозга. После прекращения введения препарата содержание ААТ в сыворотке крови снижалось до нормальных значений через 4 недели, а в ткани мозга – через 14 дней после последней инъекции бромкриптина.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Baturina M.V., Beyer E.V., Zhurbin S.A. et al. Influence of chronic administration of antiparkinson drugs on levels of serum autoantibodies to dopamine and NMDA receptors.

Medical News of North Caucasus. 2022;17 (2):178–182. doi: 10.14300/mnnc.2022.17043.

2. Батурина М.В., Бейер Э.В. Особенности поведения крыс в открытом поле в зависимости от повышения уровня аутоантител к нейрорецепторам, вызванного хроническим введением дофаминергических средств. *Психофизиология и психонейроэндокринология. Материалы II Международной конференции*. Ставрополь, 2022. С. 51–55. doi: 10.38006/19612-62-6.2022.48.51.

3. Baturina M.V., Beier E.V., Boev O.I., Popov A.V. Changes in the severity of haloperidol catalepsy in rats under chronic administration of neuroleptics. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(3):536–537. doi: 10.14300/mnnc.2019.14132.

4. Батурина М.В., Бейер Э.В., Батулин В.А. Особенности галоперидоловой катаlepsии у крыс, получавших длительно галоперидол и рисперидон, в зависимости от уровней аутоантител к нейрорецепторам в крови. *Психофизиология и психонейроэндокринология. Материалы II Международной конференции*. Ставрополь, 2022. С. 56–59. doi: 10.38006/19612-62-6.2022.56.59.

5. Батурина М.В., Бейер Э.В., Батулин В.А. Влияние хронического введения галоперидола и рисперидона на уровень аутоантител к дофамину и дофаминовым рецепторам у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;7(84):3–5. doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-7-3-5.

6. Цыбиков Н.Н., Цыбикова Е.А. Нейроиммунные взаимоотношения в патогенезе алкогольного делирия. *Забайкальский медицинский вестник*. 2008;1:19–21.

7. Pollak T.A., Beck K., Irani S.R. et al. Autoantibodies to central nervous system neuronal surface antigens: psychiatric symptoms and psychopharmacological implication. *Psychopharmacology*. 2016;233:1605–1621. doi: 10.1007/s00213-015-4156-y.

8. Glass L., Sinclair D., Boerrigter D. et al. Brain antibodies in the cortex and blood of people with schizophrenia and controls. *Translational Psychiatry*. 2017;7:e1192. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.134>.

9. Скрипченко Н.В., Широкова А.С. Нейронспецифическая енолаза и белок S100 – биомаркеры повреждений головного мозга. Состояние вопроса и клиническое применение. *Нейрохирургия и неврология детского возраста*. 2016;4:16–23.

10. Батурина М.В., Бейер Э.В., Журбин С.А., Филь А.А. Влияние хронического введения нейролептиков на содержание в крови белка S100 и уровень аутоантител к нему у крыс. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(4):573–575. doi: 10.14300/mnnc.2020.15136.

REFERENCES

1. Baturina M.V., Beyer E.V., Zhurbin S.A. et al. Influence of chronic administration of antiparkinson drugs on levels of serum autoantibodies to dopamine and NMDA receptors. *Medical News of North Caucasus*. 2022;17 (2):178–182. (In Russ.) doi: 10.14300/mnnc.2022.17043.

2. Baturina M.V., Beyer E.V. Features of the behavior of rats in the open field depending on the increase in the

level of autoantibodies to neuroreceptors caused by chronic administration of dopaminergic agents. *Psikhofiziologiya i psikhoneiroendokrinologiya. Materialy II Mezhdunarodnoi konferentsii = Psychophysiology and Psychoneuroendocrinology. Proceedings of the II International Scientific Conference*. Stavropol, 2022;51–55. doi: 10.38006/19612-62-6.2022.48.51. (In Russ.).

3. Baturina M.V., Beier E.V., Boev O.I., Popov A.V. Changes in the severity of haloperidol catalepsy in rats under chronic administration of neuroleptics. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(3):536–537. doi: 10.14300/mnnc.2019.14132.

4. Baturina M.V., Beier E.V., Baturin V.A. Features of haloperidol catalepsy in rats treated with haloperidol and risperidone for a long time, depending on the levels of autoantibodies to neuroreceptors in the blood. *Psikhofiziologiya i psikhoneiroendokrinologiya. Materialy II Mezhdunarodnoi konferentsii = Psychophysiology and Psychoneuroendocrinology. Proceedings of the II International Scientific Conference*. Stavropol: 2022;56–59. (In Russ.) doi: 10.38006/9612-62-6.2022.56.59.

5. Baturina M.V., Beyer E.V., Baturin V.A. The effect of chronic administration of haloperidol and risperidone on the level of autoantibodies to dopamine and dopamine receptors in rats. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(7):3–5. (In Russ.) doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-7-3-5.

6. Cybikov N.N., Cybikova E.A. Neuroimmune relationships in the pathogenesis of alcoholic delirium. *Zabajkal'skij medicinskij vestnik = Zabaikalsky Medical Bulletin*. 2008; 1:19–21. (In Russ.).

7. Pollak T.A., Beck K., Irani S.R. et al. Autoantibodies to central nervous system neuronal surface antigens: psychiatric symptoms and psychopharmacological implication. *Psychopharmacology*. 2016;233:1605–1621. doi: 10.1007/s00213-015-4156-y.

8. Glass L., Sinclair D., Boerrigter D. et al. Brain antibodies in the cortex and blood of people with schizophrenia and controls. *Translational Psychiatry*. 2017;7:1–9. doi: 10.1038/tp.2017.134.

9. Skripchenko N.V., Shirokova A.S. Neuron-specific enolase and S100 protein as biomarkers of brain damage. Review and clinical application. *Nejrohirurgiya i Nevrologiya detskogo vozrasta = Pediatric Neurosurgery and Neurology*. 2016;4: 16–23. (In Russ.).

10. Baturina M. V., Beier E. V., Zhurbin S. A., Phil A. A. Effect of neuroleptics chronic administration on the content of protein S100 in blood and the level of autoantibodies to it in rats. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasus*. 2020;15(4):573–576. (In Russ.) doi: 10.14300/mnnc.2020.15136.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

М.В. Батурина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической фармакологии, Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия; ✉ nimdark@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2745-403X>

Е.В. Грудина – кандидат биологических наук, научный сотрудник, Центр клинической фармакологии и фармакотерапии, Ставрополь, Россия; kvgrud@rambler.ru

Статья поступила в редакцию 11.09.2023; одобрена после рецензирования 20.04.2024; принята к публикации 06.09.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

M.V. Baturina – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology, Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia; ✉ nimdark@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2745-403X>

E.V. Grudina – Candidate of Biological Sciences, Researcher, Center for Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, Stavropol, Russia; kvgrud@rambler.ru

The article was submitted 11.09.2023; approved after reviewing 20.04.2024; accepted for publication 06.09.2024.