

«Утверждаю»

ФГБУ МРНЦ Минздрава России
Директор

Цыб А.Ф.

« ___ » _____ 2013 г.

ПРОТОКОЛ

испытаний иммуностимулирующих свойств физиологического раствора, экспонированного с излучением галавита.

Испытания выполнены в соответствии с договором №1309/13 от 11 февраля 2013 г. между «Фондом ДСТ» (заказчик) и ФГБУ МРНЦ Минздрава России (исполнитель)

Цель испытаний – определить влияние физиологического раствора, экспонированного на CD-диске с излучением галавита, на иммунную реактивность лабораторных мышей и воспроизводимость иммуностимулирующего эффекта, свойственного препарату галавит, с помощью данной обработки раствора.

Исследования проведены в соответствии с требованиями оценки иммуотропной активности лекарственных средств, изложенными в “Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ”, М., 2005.

В качестве показателей состояния органов системы иммунитета использовали величину массы тимуса и селезенки, их клеточность (число ядросодержащих клеток) и количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке, образующихся в результате гуморального иммунного ответа на эритроциты барана.

Материалы и методы

Испытания выполнены на лабораторных мышах-самцах высокоинбредной линии СВА массой 24-25 г, содержащихся в условиях вивария на стандартном пищевом и водном рационе. В каждой обследуемой группе было по 6-7 особей. У мышей моделировали постстрессорное

иммунодефицитное состояние плаванием в течение 1 часа при температуре 31-32°C.

Экспонированные на дисках (опытном – с излучением галавита и контрольном диске – без излучения) в течение одних суток 0,9% растворы NaCl вводили животным через 5 суток после стрессирования трехкратно внутрибрюшинно в объеме 0.5 мл. Через 1 час после последнего введения животных иммунизировали эритроцитами барана в дозе 1×10^8 внутрибрюшинно. Через пять суток животных умерщвляли дислокацией шейных позвонков под эфирным наркозом. Определяли массу и клеточность тимуса и селезенки, а также количество в ней антителообразующих клеток (АОК) методом Каннингема. Статистическую значимость различий сравниваемых величин оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Диски с излучением галавита предоставлены Фондом ДСТ в соответствии с инструкцией (сайт newpharm.ru).

Были обследованы следующие группы мышей.

1. Интактные мыши.
2. Стрессированные мыши, которым вводили физраствор, экспонированный на контрольном (без излучения галавита) диске.
3. Стрессированные мыши, которым вводили физраствор, экспонированный на опытном (с излучением галавита) диске.

Всего было проведено две независимых серии испытаний.

Результаты испытаний

Проведенные экспериментальные исследования показали следующие результаты. Используемая в испытаниях модель иммунодефицитного состояния соответствует воздействию относительно низкоинтенсивного стрессирующего фактора – плавания животных в теплой воде в течение 1 часа. Соответственно и нарушение иммунной реактивности на антиген носит непродолжительный и маловыраженный характер, так как ее оценка проводилась в сроки, когда развивается восстановление иммунитета.

Основным функциональным показателем в проведенном исследовании является способность мышей к иммунному ответу на тимусзависимый антиген, эритроциты барана, определяемая по количеству в селезенке антителообразующих клеток (АОК), и в меньшей степени по изменению массы и клеточности селезенки и тимуса.

Таблица 1. **Серия 1.** Иммунологические показатели ($M \pm m$) у интактных или стрессированных мышей после введения растворов, экспонированных на чистом диске (контроль) или диске с излучением галавита (опыт)

№ группы	Группы животных	Селезенка			Тимус	
		масса, мг	клеточность, 1×10^6	АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1×10^6
1	Интактные	108±6,3 (100±5,8)	137±12,2 (100±8,9)	163±9,0 (100±5,5)	21,3±1,3 (100±6,1)	36,8±4,8 (100±13,0)
2	Стресс, контроль	107±2,0 (99,1±1,85)	108±5,8 (78,3±4,2)	145±18,8 (89,0±11,5)	19,2±0,5 (90,1±2,3)	28,5±3,3 (77,4±9,0)
3	Стресс, опыт	100±4,5 (92,6±4,2)	142±12,5* (104±9,1)	209±35,7 (128±21,9)	22,2±0,8* (104±3,8)	41,2±4,0* (112±10,9)

Примечание, здесь и в табл. 2:

* - статистически значимое отличие ($p < 0,05$) от группы контроль;
в скобках - % к группе интактные.

Таблица 2. **Серия 2.** Иммунологические показатели ($M \pm m$) у интактных или стрессированных мышей после введения растворов, экспонированных на чистом диске (контроль) или диске с излучением галавита (опыт)

№ группы	Группы животных	Селезенка			Тимус	
		масса, мг	клеточность, 1×10^6	АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1×10^6
1	Интактные	101±4,4 (100±4,4)	127±6,7 (100±5,3)	228±28,7 (100±12,5)	14,0±1,0 (100±7,1)	34,8±10,0 (100±29,0)
2	Стресс, контроль	99,5±3,4 (99,0±3,4)	77,5±7,5 (61,0±5,9)	144±36,2 (63,2±15,9)	15,3±1,4 (109±10,0)	30,8±4,2 (88,5±12,0)
3	Стресс, опыт	96,9±3,8 (96,0±3,8)	88,0±3,8 (69,3±3,0)	261±23,9* (114±10,5)	15,5±1,7 (155±17,0)	30,6±3,8 (88,0±10,9)

Как следует из результатов, представленных в таблицах 1 и 2, в обеих сериях экспериментов при наличии некоторых количественных отличий между сериями, у мышей, получавших физраствор, экспонированный на

диске с излучением галавита, наблюдалось повышение большинства исследованных иммунологических показателей селезенки и тимуса.

Заключение

Физиологический раствор, экспонированный с источником излучения, характерного для иммуностимулирующего лекарственного средства, галавита, воспроизводит его способность к стимуляции иммунной реактивности при парентеральном введении экспериментальным животным.

Заведующий лабораторией радиационной иммунологии
ФГБУ «Медицинский радиологический научный центр» Минздрава
России, д.б.н. Суринов Б.П.

Ведущий научный сотрудник, к.б.н. Исаева В.Г.

Научный сотрудник Духова Н.Н.

Лаборант-исследователь Салазкина И.П.