

БИОМЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ НАРКОЛОГИИ

doi: 10.47877/0234-0623_2022_2-3_25

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ (ВТОРИЧНЫХ) АНТИТЕЛ, ВЫРАБОТАННЫХ ЭНДОГЕННО В РЕЗУЛЬТАТЕ ИММУНИЗАЦИИ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ ИДИОТИПИЧЕСКИМИ (ПЕРВИЧНЫМИ) АНТИТЕЛАМИ К ДВУМ ПРОИЗВОДНЫМ МОРФИНА, НА ПОВЕДЕНИЕ И ПОРОГ НОЦИЦЕПТИВНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ У КРЫС

Гамалея Н.Б.¹, Климова Т.А.¹, Абрамова О.В.², Возняковская Е.В.²

tatanaklimova700@gmail.com

¹ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского
Национальный научный центр наркологии
г. Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского
г. Москва, Россия

Статья поступила 16.02.2022

В работе представлены материалы по изучению поведения крыс в тесте «открытое поле» и их ноцицептивной чувствительности после цикла иммунизации запатентованными первичными моноклональными антителами к двум производным морфина (6-гемисукцинильному и 3-карбоксиметильному эфирам). Показано, что эндогенная выработка антиидиотипических (вторичных, Am2) антител с морфиноподобным действием и их длительная циркуляция в организме не приводит к развитию синдрома отмены после введения налоксона гидрохлорида, характерного для опиной абстиненции, и не изменяет порог ноцицептивной чувствительности у крыс в тесте отдергивания хвоста в ответ на термическое раздражение. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии аддитивного потенциала у антиидиотипических антител к производным морфина, образуемых эндогенно. Примененная схема иммунизации идиотипическими (первичными, Am1) антителами в качестве антигена

Об авторах:

Гамалея Наталия Борисовна – д-р мед. наук, профессор, заведующая лабораторией иммунохимии ННЦ наркологии, филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Климова Татьяна Андреевна – канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории иммунохимии ННЦ наркологии, филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Абрамова Ольга Вячеславовна – мл. науч. сотр. отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Возняковская Елена Валентиновна – зав. экспериментально-биологической клиникой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

не оказывает существенного влияния на ориентировочно-исследовательское поведение крыс в тесте «открытое поле».

Ключевые слова: антиидиотипические антитела, идиотипические антитела, производные морфина, моноклональные антитела, открытое поле, ноцицептивная чувствительность, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в нашей стране и за рубежом ведется активная работа по созданию вакцин от различных химических зависимостей, включая зависимость от опиатов [1; 2; 5; 11; 12; 14; 15; 18; 19]. Ведутся исследования по усовершенствованию конъюгированных вакцин с использованием различных адъювантов и наночастиц с целью получения более высоких титров первичных антител против конъюгатов наркотика или другого ПАВ с высокомолекулярным носителем в организме вакцинированного животного [13; 20]. Показано также, что комбинирование потенциальной вакцины от опиоидной зависимости с длительно высвобождаемым из депо налтрексоном в эксперименте на крысах усиливает защиту животных от поведенческих и токсических эффектов оксикодона [16].

В разработанной нами вакцине от опиатной зависимости в качестве вакцинного антигена были получены поликлональные антиидиотипические антитела (вторичные, Ат2), обладающие структурным сходством с производными морфина и вызывающие в организме вакцинированного животного образование третичных антител (Ат3) к этим производным. Последние способны связать поступающий наркотик в кровяном русле подобно идиотипическим (первичным, Ат1) антителам. В наших предыдущих работах показано, что у морфин-зависимых крыс, вакцинированных Ат2, полученными в результате иммунизации мини-свиньи поликлональными Ат1 кролика к двум производным морфина (6-гемисукцинильному и 3-карбоксиметильному эфирам), снижалось потребление наркотика в условиях свободного выбора (двухпоилочный питьевой тест), а также смягчались проявления зависимости после введения налоксона гидрохлорида [1]. Предварительная иммунизация крыс Ат2, выделенными из гипериммунной сыворотки лошади, иммунизированной моноклональными Ат1 мыши к двум производным морфина, или Ат2, полученными из гипериммунной сыворотки кролика, иммунизированного поликлональными Ат1 свиньи к тем же производным морфина, также предотвращала проявления зависимости от морфина [2]. Обнаруженные эффекты были связаны с появлением в сыворотке крови вакцинированных крыс как Ат3, так и Ат4 к производным морфина [5].

В тест-системе, разработанной нами ранее на основе клеток глиобластомы человека линии Т98G, несущих на своей поверхности опиатные рецепторы, было показано, что поли- и моноклональные Ат2 обладают морфиноподобным действием [10]. При этом иммунизация крыс поликлональными Ат2, выделенными

ми из гипериммунных сывороток различных животных, не обладали аддитивным потенциалом, что было доказано нами ранее [3].

Цель настоящего исследования – оценка влияния антиидиотипических (вторичных, Ат2) антител, вырабатываемых эндогенно в ответ на иммунизацию крыс первичными моноклональными антителами к двум производным морфина, на поведение животных после введения налоксона и порог болевой чувствительности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась на 29 крысах-самцах линии Wistar (питомник лабораторных животных «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства») с соблюдением международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: 8th ed., 2010) и Принципов надлежащей лабораторной практики (приказ Министерства здравоохранения РФ №199н от 01.04.2016, ГОСТ Р 53434-2009). Животных содержали в условиях естественного освещения при температуре 22 ± 1 °C. В качестве пищевого рациона использовали воду и гранулированный корм (ГОСТ Р 50258-92) в свободном доступе. Эксперимент проводили с октября по ноябрь месяц. Начальная масса тела крыс составляла 170–190 г.

Крысы были разделены на 3 группы. Животные группы 1 (14 крыс) были иммунизированы смесью двух запатентованных первичных моноклональных антител мыши (МкАт 6G1 и МкАт 3K11), полученных к двум производным морфина (6-гемисукцинильному и 3-карбоксиметильному эфирам) во ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» ФМБА России (Санкт-Петербург) в ходе научного сотрудничества [7; 8]. Проведены 3 иммунизации подкожно в 2 точки спины каждая. Первая иммунизация – в дозе 0,1 мг/кг массы тела в физиологическом растворе в смеси с полным адъювантом Фрейнда (АФ) в объемном соотношении 1:1. Вторая и третья иммунизации – в дозе 1 мг/кг массы тела в физиологическом растворе в смеси с неполным АФ в объемном соотношении 1:1. Каждую последующую иммунизацию проводили на 14-й день после предыдущей. Животные группы 2 (7 крыс) в те же сроки и в тех же дозах были иммунизированы нормальным иммуноглобулином мыши класса G (nIgG) с полным или неполным АФ. Животные группы 3 (8 крыс) получали в те же сроки инъекции физиологического раствора в смеси с соответствующим АФ.

На 14-й день после третьей инъекции у крыс всех групп определяли порог ноцицептивной чувствительности по латентному периоду отдергивания хвоста из горячей воды (температура 55°C) по методике, примененной нами ранее [4].

На 15-й день после третьей иммунизации (на 42-й день от начала иммунизации) 7 крыс из первой группы декапитировали, из крови выделяли сыворотки для определения в них наличия вторичных и третичных антител к производным

морфина по описанным ранее методикам методом иммуноферментного анализа (ИФА) [1; 10]. Другие 7 крыс из группы 1 получили поочередно внутривенную инъекцию налоксона гидрохлорида (1 мг/кг массы тела) с последующей посадкой в центр установки «открытое поле» (диаметр круглого поля серого цвета 100 см, высота борта 40 см) с видеорегистрацией и автоматической обработкой результатов с помощью программного обеспечения «Минотавр» (ООО «Нейроботикс», Россия) для оценки ориентировочно-исследовательского поведения. Тестирование проводили в течение 10 мин (600 сек), отмечая визуально возможное появление признаков, характерных для опиоидного абстинентного синдрома, таких как встряхивание передними лапами и/или головой, скрежет зубами, прыжки. Подсчитывали также количество стоек, заглядываний в лунки, реакций чистки (груминга). По окончании эксперимента в установке «открытое поле» анализировали видеозаписи двигательной активности. Отдельно оценивали показатели за 1–2 (120 с) и 3–10 (480 с) минуты. Регистрировали следующие показатели: длительность активного перемещения животных по горизонтали ($T_{\text{акт, гор}}$, с), длительность периода без активных перебежек ($T_{\text{пас}}$, с), скорость движения (м/с) и пройденное расстояние (S , м). Учитывали также число посещений центральной (зона 1) и периферической (зона 2) зон. Зона 1 представляла собой центральную часть поля с радиусом 50 см, зона 2 – оставшуюся часть поля.

Крысы из группы 2 также получили инъекцию налоксона гидрохлорида, после чего были протестированы в установке «открытое поле». Поведение крыс из группы 3 оценивали без введения налоксона гидрохлорида.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов исследований проведена с помощью методов вариационной статистики с учетом характера распределения признаков с применением пакетов программ Statistica 10 и Biostatistics. Характер распределения признаков оценивали с помощью критерия W Шапиро-Уилка. Оказалось, что некоторые признаки (переменные) имели нормальное распределение, тогда как распределение других отличалось от нормального (P оказался ниже 0,05). Поэтому для всех изученных признаков вычисляли выборочное среднее \bar{X} , выборочное стандартное отклонение s , медиану (Me), нижний (25-й процентиль) и верхний квартили (75-й процентиль) – даны в скобках в виде интерквартильного размаха. Сравнение трех независимых групп животных по одному признаку проводили с помощью непараметрического метода – дисперсионного анализа по Крускалу-Уоллису, применяемого для количественных признаков независимо от вида распределения. При наличии значимых отличий проводили последующие множественные сравнения групп между собой по критерию Данна [6; 9]. В случае только нормального распределения признака во всех трех группах (в показателях теста отдергивания хвоста) применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлена частота встречаемости поведенческих признаков, оцененных визуально, которые наблюдались в течение 10 мин (600 с) после введения животным налоксона гидрохлорида и помещения их в центр поля. Как видно из представленных данных, для крыс обследованных групп не было выявлено статистически значимых различий по таким признакам морфинной абстиненции, как встряхивание передними лапами и/или головой и скрежет зубами. Также у крыс обследованных групп не было выявлено такого характерного для синдрома отнятия морфина признака как прыжки, выявленного нами в проведенном ранее эксперименте [2]. Не обнаружено отличий в количестве стойек и заглядываний в лунки. Отмечено лишь значимое снижение груминга в группе, иммунизированной нормальным IgG мыши, что не имеет принципиального значения при оценке возможного аддиктивного действия эндогенно выработанных Ат2.

Таблица 1. Частота встречаемости поведенческих признаков, оцененных визуально, в группах обследованных крыс; М (s); Ме (25% – 75%)

Поведенческие признаки	Исследованные группы крыс		
	1. Иммунизация МкАт1 + налоксон (n = 6)	2. Иммунизация nIgG мыши + налоксон (n = 7)	3. Физ. р-р + АФ (n = 7)
Встряхивание передними лапами и/или головой	0,50 (0,84); 0,0 (0,0 – 1,0)	0,0 (0,0) 0,0 (0,0 – 0,0)	0,71 (1,25) 0,0 (0,0 – 2,0)
Скрежет зубами	0,33 (0,52); 0,0 (0 – 1,0)	0,0 (0,0) 0,0 (0,0 – 0,0)	0,14 (0,38) 0,0 (0,0 – 0,0)
Стойки	17,0 (7,40); 15,5 (11,0 – 18,0)	21,57 (7,89) 23,0 (18,0 – 26,0)	25,29 (7,11) 25,0 (22,0 – 32,0)
Заглядывание в лунки	5,33 (3,93); 5,0 (2,0 – 7,0)	8,57 (3,91) 10,0 (6,0 – 11,0)	8,29 (2,75) 9,0 (7,0 – 11,0)
Груминг	7,17 (2,32); 7,5 (5,0 – 9,0)	2,00 (1,83) 1,0 (1,0 – 4,0) * отличие от гр. 1	5,57 (4,50) 4,0 (2,0 – 11,0)

Примечание: * дисперсионный анализ по Крускалу-Уоллису, множественные сравнения по критерию Данна, $p < 0,05$.

Следует подчеркнуть, что при анализе сывороток крови крыс, иммунизированных МкАт1, с помощью ИФА преимущественно были выявлены вторичные (Ат2) антитела в титрах 1:640 – 10400 и лишь незначительное количество антител третьего порядка (Ат3) в титрах 1:40 – 1:80 (анализ проведен А.Г. Берзиной). В связи с этим все полученные результаты исследования поведенческой активности крыс, иммунизированных Ат1 к производным морфина, можно рассматривать

как эффект влияния эндогенно выработанных Ат2 к тем же производным. Как видно из результатов (*табл. 1*), эндогенные Ат2 не вызывают признаки опийной абстиненции и не обладают аддитивным потенциалом.

Значения других показателей ориентировочно-исследовательской двигательной активности, зарегистрированных видеокамерой и автоматически обработанных программой «Минотавр», приведены в *табл. 2а, 2б, 2в*. Как видно из этих таблиц, поведение крыс после трех иммунизаций первичными моноклональными антителами к двум производным морфина на фоне циркуляции в крови эндогенных Ат2 (группа 1) практически не отличалось от групп сравнения 2 и 3. Можно отметить лишь более длительное пребывание крыс первой группы в центральной зоне и меньшую скорость перемещения в ней (статистически значимо в первые две минуты) по сравнению с группами сравнения. Это могло свидетельствовать о некотором замедлении ориентировочной реакции.

В связи с тем, что Ат2 к производным морфина имеют в своей структуре морфиноподобные участки, представлялось целесообразным оценить также ноцицептивную чувствительность крыс. В *табл. 3* приведены результаты измерения латентного периода отдергивания хвоста в обследованных группах крыс на 41-й день от начала иммунизации. Значимых отличий в болевом пороге выявлено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что эндогенно образуемые антиидиотипические (вторичные, Ат2) антитела с морфиноподобным действием практически не влияют на ориентировочно-исследовательское поведение крыс в тесте «открытое поле» и порог ноцицептивной чувствительности на термическое раздражение хвоста. В ответ на введение налоксона гидрохлорида в дозе 1 мг/кг массы тела у крыс не отмечены признаки, характерные для опийной абстиненции. Полученные данные позволяют сделать заключение об отсутствии аддитивного потенциала у антиидиотипических антител к производным морфина, образуемых эндогенно. Можно также заключить, что примененная схема иммунизации первичными антителами к производным морфина в качестве антигена не оказывает существенного влияния на ориентировочно-исследовательское поведение крыс в тесте «открытое поле» и болевой порог в тесте «отдергивания хвоста» в ответ на термическое раздражение.

Таблица 2а. Значения параметров ориентировочно-исследовательской двигательной активности, оцененных аппаратно-программным комплексом «Минотавр» в группах обследованных крыс, М (s); Ме (25% – 75%)

Параметры двигательной активности	Период наблюдения	Группы обследованных крыс				
		1. Иммунизация МАТ1 + налоксон (n = 6)		2. Иммунизация nlgB мыши + налоксон (n = 7)		3. Физ. р-р + адьювант Фрейнда (n = 7)
Т _{акт, гор} , с	1–2 мин	Все поле 120 с	78 (11); 76 (71 – 83)	Все поле 120 с	82 (18); 85 (82 – 95)	Все поле 120 мин 85 (8) 90 (76 – 91)
		Зона 1 12 с	7 (4); 8 (4 – 10)	Зона 1 5 с	4 (2); 4 (2 – 6)	Зона 1 5 с 4 (3) 3 (2 – 7)
		Зона 2 108 с	70 (12); 67 (65 – 72)	Зона 2 115 с	78 (19); 79 (78 – 93)	Зона 2 114 с 81 (9) 87 (69 – 88)
	3–10 мин	Все поле 480 с	196 (40); 176 (167 – 227)	Все поле 480 с	218 (48); 237 (200 – 254)	Все поле 480 с 215 (24) 218 (186 – 238)
		Зона 1 12 с	7 (9); 3 (0 – 18)	Зона 1 1 с	1 (2); 0 (0 – 1)	Зона 1 6 с 4 (7) 2 (0 – 4)
		Зона 2 468 с	189 (41); 172 (167 – 208)	Зона 2 478 с	217 (47); 236 (200 – 253)	Зона 2 474 211 (21) 213 (186 – 234)
	1–10 мин	Все поле 600 с	273 (48); 255 (242 – 298)	Все поле 600 с	301 (64); 321 (291 – 349)	Все поле 600 300 (27) 313 (276 – 325)
		Зона 1 24 с	14 (8); 14 (10 – 22)	Зона 1 6 с	5 (3); 4 (3 – 6)	Зона 1 11 с 8 (8) 4 (3 – 12)
		Зона 2 576 с	259 (52); 242 (232 – 275)	Зона 2 594 с	296 (63); 317 (288 – 337)	Зона 2 588 с 291 (26) 289 (271 – 322)

Параметры двигательной активности	Период наблюдения	Группы обследованных крыс				
		1. Иммунизация МАТ1 + налоксон (n = 6)		2. Иммунизация nlgB мыши + налоксон (n = 7)		3. Физ. р-р + адъювант Фрейнда (n = 7)
Т _{нас} с	1–2 мин	Все поле 120 с	42 (11); 44 (37 – 49)	Все поле 120 с	38 (18); 35 (25 – 38)	Все поле 120 с 35 (8) 30 (29 – 44)
		Зона 1 12 с	5 (5); 4 (1 – 7) * Отличие от гр. 2 и 3	Зона 1 5 с	1 (1); 0 (0 – 2)	Зона 1 5 с 1 (1) 0 (0 – 2)
		Зона 2 108 с	38 (12); 35 (30 – 48)	Зона 2 115 с	37 (18); 34 (25 – 36)	Зона 2 114 с 34 (8) 30 (28 – 42)
	3–10 мин	Все поле 480 с	284 (40); 176 (167 – 227)	Все поле 480 с	262 (48); 243 (226 – 280)	Все поле 480 с 265 (24) 262 (242 – 294)
		Зона 1 12 с	5 (7); 1 (0 – 11)	Зона 1 1 с	0 (1); 0 (0 – 0)	Зона 1 6 с 2 (3) 0 (0 – 4)
		Зона 2 468 с	280 (41); 300 (238 – 309)	Зона 2 478 с	261 (48); 243 (226 – 280)	Зона 2 474 с 263 (26) 258 (240 – 294)
		Все поле 600 с	327 (48); 345 (302 – 357)	Все поле 600 с	299 (64); 278 (251 – 309)	Все поле 600 с 300 (27) 287 (275 – 324)
	1–10 мин	Зона 1 24 с	10 (6); 11 (5 – 15) * Отличие от гр.2	Зона 1 6 с	1 (2); 0 (0 – 2)	Зона 1 11 с 3 (4) 1 (0 – 6)
		Зона 2 576 с	317 (45); 334 (287 – 352)	Зона 2 594 с	298 (64); 277 (249 – 309)	Зона 2 588 с 297 (28) 281 (275 – 324)

Примечание: * дисперсионный анализ по Крускалу-Уоллису, множественные сравнения по критерию Данна, р < 0,05.

Таблица 2б. Значения параметров ориентировочно-исследовательской двигательной активности, оцененных аппаратно-программным комплексом «Минотавр» в группах обследованных крыс, М (s); Ме (25% – 75%)

Параметры двигательной активности	Период наблюдения	Группы обследованных крыс					
		1. Иммунизация МАТ1 + налоксон (n = 6)	2. Иммунизация n1gB мыши + налоксон (n = 7)	3. Физ. р-р + адъювант Фрейнда (n = 7)			
V _{гор} , см/с	1–2 мин	Все поле	12 (2); 12 (11 – 12)	Все поле	13 (1); 13 (12 – 13)	Все поле	13 (1) 12 (12 – 14)
		Зона 1	10 (1); 10 (9 – 11); *Отличие от гр. 2 и 3	Зона 1	13 (2); 14 (11 – 15)	Зона 1	13 (3) 13 (11 – 14)
		Зона 2	13 (2) 12 (11 – 13)	Зона 2	13 (1); 13 (12 – 13)	Зона 2	13 (1) 12 (12 – 14)
	3–10 мин	Все поле	10 (1); 10 (9 – 11)	Все поле	10 (1); 11 (10 – 11)	Все поле	10 (1) 10 (9 – 11)
		Зона 1	5 (5); 5 (0 – 9)	Зона 1	6 (7); 0 (0 – 11)	Зона 1	7 (7) 8 (0 – 13)
		Зона 2	10 (1); 10 (9 – 11)	Зона 2	10 (1); 11 (10 – 11)	Зона 2	10 (1) 10 (9 – 11)
	1–10 мин	Все поле	11 (1); 11 (9 – 12)	Все поле	11 (1); 11 (11 – 11)	Все поле	11 (1) 11 (10 – 11)
		Зона 1	9 (1); 9 (9 – 10) *Отличие от гр. 2,3	Зона 1	13 (2); 14 (11 – 15)	Зона 1	13 (3) 12 (12 – 14)
		Зона 2	11 (1); 11 (9 – 12)	Зона 2	11 (1); 11 (11 – 11)	Зона 2	11 (1) 11 (10 – 11)

Параметры двигательной активности	Период наблюдения	Группы обследованных крыс				
		1. Иммунизация МАТ1 + налоксон (n = 6)		2. Иммунизация nIGB мыши + налоксон (n = 7)		3. Физ. р-р + адъювант Фрейнда (n = 7)
S, м	1–2 мин	Все поле	9,5 (2,9); 8,4 (8,3 – 10,3)	Все поле	10,5 (0,3); 12,0 (9,9 – 12,2)	Все поле 10,8 (1,8) 11,7 (9,0 – 12,4)
		Зона 1	0,7 (0,3); 0,7 (0,4 – 0,9)	Зона 1	0,5 (0,3); 0,4 (0,3 – 0,8)	Зона 1 0,5 (0,3) 0,5 (0,3 – 0,8)
		Зона 2	8,9 (3,0); 7,7 (7,4 – 9,3)	Зона 2	10,0 (2,8); 11,4 (9,4 – 11,9)	Зона 2 10,2 (2,0) 10,8 (8,1 – 12,1)
	3 – 10 мин	Все поле	19,3 (5,4); 17,5 (15,0 – 23,0)	Все поле	23,0 (6,7); 24,1 (20,2 – 27,0)	Все поле 22,1 (4,5) 21,8 (17,3 – 24,6)
		Зона 1	0,7 (0,9); 0,3 (0,0 – 1,6)	Зона 1	0,1 (0,3); 0,0 (0,0 – 0,1)	Зона 1 0,4 (0,7) 0,3 (0,0 – 0,5)
		Зона 2	18,6 (5,5); 17,2 (15,0 – 21,1)	Зона 2	22,9 (6,5); 24,1 (20,2 – 26,9)	Зона 2 21,6 (4,4) 21,3 (17,3 – 24,6)
	1–10 мин	Все поле	28,7 (7,9); 26,8 (23,4 – 31,4)	Все поле	33,5 (9,1); 33,9 (32,4 – 39,2)	Все поле 32,9 (5,5) 32,3 (29,2 – 37,4)
		Зона 1	1,3 (0,7); 1,2 (0,9 – 2,0)	Зона 1	0,6 (0,5); 0,4 (0,3 – 0,9)	Зона 1 1,0 (0,9) 0,6 (0,3 – 1,2)
		Зона 2	27,4 (8,3); 25,6 (22,5 – 29,0)	Зона 2	32,9 (9,0); 33,4 (32,0 – 38,8)	Зона 2 31,8 (5,5) 29,4 (28,9 – 36,9)

Примечание: * дисперсионный анализ по Крускалу-Уоллису, множественные сравнения по критерию Данна, p < 0,05.

Таблица 2в. Значения параметров ориентировочно-исследовательской двигательной активности, оцененных аппаратно-программным комплексом «Минотавр» в группах обследованных крыс, М (s); Ме (25% – 75%)

Параметры двигательной активности	Период наблюдения	Группы обследованных крыс				
		1. Иммунизация МАГ1 + налоксон (n = 6)	2. Иммунизация nlgB мыши + налоксон (n = 7)	3. Физ. р-р + адьювант Фрейнда (n = 7)		
Число посещений зоны	1–2 мин	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)		
		Зона 1 1,5 (1); 1,5 (1,0 – 2,0)	Зона 1 1,1 (0,4); 1,0 (1,0 – 1,0)	Зона 1 1,7 (0,8); 2,0 (1,0 – 2,0)		
		Зона 2 1,5 (0,5); 1,5 (1,0 – 2,0)	Зона 2 1,1 (0,4); 1,0 (1,0 – 1,0)	Зона 2 1,9 (0,7); 2,0 (1,0 – 2,0)		
	3–10 мин	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)		
		Зона 1 0,8 (1,2); 0,5 (0,0 – 1,0)	Зона 1 0,5 (0,8); 0,0 (0,0 – 1,0)	Зона 1 0,9 (1,1); 1,0 (0,0 – 1,0)		
		Зона 2 2,0 (1,1); 2,0 (1,0 – 2,0)	Зона 2 1,6 (0,8); 1,0 (1,0 – 2,0)	Зона 2 1,9 (1,1); 2,0 (1,0 – 2,0)		
	1–10 мин	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)	Все поле 1,0 (0,0); 1,0 (1,0 – 1,0)		
		Зона 1 2,3 (1,0); 2,0 (2,0 – 3,0)	Зона 1 1,7 (1,1); 1,0 (1,0 – 2,0)	Зона 1 2,6 (1,7); 2,0 (1,0 – 3,0)		
		Зона 2 2,5 (1,0); 2,5 (2,0 – 3,0)	Зона 2 1,7 (1,1); 1,0 (1,0 – 2,0)	Зона 2 2,7 (1,7); 3,0 (1,0 – 3,0)		

Примечание: проведен дисперсионный анализ по Крускалу-Уоллису.

Таблица 3. Латентный период отдергивания хвоста (с) в группах обследованных крыс, М (s); Ме

Группы обследованных крыс		
1. Иммунизация МАт1 + налоксон (n = 13)	2. Иммунизация nIgG мыши + налоксон (n = 7)	3. Физ. р-р + АФ (n = 8)
5,8 (1,7); 5,5	4,8 (1,2); 5,0	4,8 (1,9); 4,0

Примечание: для сравнения трех групп по одному признаку применен однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, так как все переменные имеют нормальное распределение. Различия незначимы (F = 1,508; p = 0,241).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гамалея Н.Б., Берзина А.Г., Ульянова Л.И. Методологические основы создания вакцины для иммунотерапии зависимости от опиатов // Вопросы наркологии. – 2017. – №4–5. – С. 23–56.
2. Гамалея Н.Б., Климова Т.А., Берзина А.Г., Еганов А.А., Носырев А.Е. Оценка эффективности антиидиотипических (вторичных) антител к производным морфина в качестве профилактического средства для предотвращения проявления зависимости от морфина у крыс // Вопросы наркологии. – 2021. – №8. – С. 73–85. – doi: 10.47877/0234-0623_2021_08_73.
3. Гамалея Н.Б., Климова Т.А., Берзина А.Г., Ульянова Л.И., Возняковская Е.В., Фокин Ю.В. Оценка аддиктивного потенциала антиидиотипических антител к производным морфина // Вопросы наркологии. – 2019. – №4. – С. 28–38.
4. Гамалея Н.Б., Климова Т.А., Берзина А.Г., Ульянова Л.И., Фокин Ю.В., Капанадзе Г.Д. Оценка болевой чувствительности крыс, иммунизированных экспериментальной антиидиотипической вакциной от опиатной зависимости // Наркология. – 2018. – №8. – С. 61–66.
5. Гамалея Н.Б., Ульянова Л.И., Берзина А.Г., Климова Т.А. Возможный механизм терапевтического действия вакцинации антиидиотипическими антителами к производным морфина при опиатной зависимости в эксперименте у крыс // Вопросы наркологии. – 2020. – №6. – С. 36–47.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
7. Пат. РФ №2702002. Моноклональное антитело 3К11 к производным морфина / А.И. Ищенко, Т.В. Кудлинг, В.Е. Сергеева, А.В. Трофимов, Н.Б. Гамалея, Л.И. Ульянова, А.Г. Берзина; опубл. 03.10.2019. Бюл. №28.
8. Пат. РФ №2703494. Моноклональное антитело 6G1 к производным морфина / А.И. Ищенко, Т.В. Кудлинг, В.Е. Сергеева, А.В. Трофимов, Н.Б. Гамалея, Л.И. Ульянова, А.Г. Берзина; опубл. 18.10.2019. Бюл. №29.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2003. – 305 с.
10. Трофимов А.В., Горбунов Н.П., Ищенко А.М., Рак А.Я., Симбирцев А.С., Гамалея Н.Б., Ульянова Л.И., Берзина А.Г., Климова Т.А. Морфин-специфические антигенные и функциональные свойства поли- и моноклональных антиидиотипических антител // Иммунология. – 2019. – Т. 40. – №4. – С. 5–12. – doi: 10.24411/0206-4952-2019-14001.
11. Bremer P.T., Janda K.M. Conjugate vaccine immunotherapy for substance use disorder // Pharmacol. Rev. – 2017. – Vol. 69. – P. 298–315. – doi: 10.1124/pr.117.013904.

12. *Bremer P.T., Schlosburg J.E., Banks M.L., Steele F.R., Zhou B., Poklis J.L., Janda K.D.* Development of a clinically viable heroin vaccine // *J. Am. Chem. Soc.* – 2017. – Vol. 139. – N25. – P. 8601–8611. – doi: 10.1021/jacs.7b03334.
13. *Kinishima A., Olson M.E., Natori Y., Janda K.M.* Efficient syntheses of cocaine vaccines and their in vivo evaluation // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2018. – Vol. 9. – P. 411–416. – doi: 10.1021/ascmedchemlett.8b00051.
14. *Lee J.C., Janda K.D.* Development of effective therapeutics for polysubstance use disorders // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2022. – Vol. 66. – Epub. 102105. – doi: 10.1016/j.cbpa.2021.102105.
15. *Pravetoni M., Comer S.D.* Development of vaccines to treat opioid use disorders and reduce incidence of overdose // *Neuropharmacology.* – 2019. – Vol. 158. – Epub. 107662. – doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.06.001.
16. *Raleigh M.D., Accetturo C., Pravetoni M.* Combining a candidate vaccine for opioid use disorders with extended-release naltrexone increases protection against oxycodone-induced behavioral effects and toxicity // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2020. – Vol. 374. – N3. – P. 392–403. – doi: 10.1124/jpet.120.000014.
17. *Townsend E.A., Banks M.L.* Preclinical evaluation of vaccines to treat opioid use disorders: how close are we to a clinically viable therapeutic? // *CNS Drugs.* – 2020. – Vol. 34. – P. 449–461. – doi: 10.1007/s40263-020-00722-8.
18. *Truong T.T., Kosten T.R.* Current status of vaccines for substance use disorders: a brief review of human studies // *J. Neurol. Sci.* – 2021. – Vol. 434. – Epub. 120098. – doi: 10.1016/j.jns.2021.120098. Online ahead of print.
19. *Xiaoshan T., Junjie Y., Wenqing W., Yunong Z., Jiaping L., Shanshan L., Kutty Selva N., Kui C.* Immunotherapy for treating methamphetamine, heroin and cocaine use disorders // *Drug Disc Today.* – 2020. – Vol. 25. – N3. – P. 610–619. – doi: 10.1016/j.drudis.2019.07.009.
20. *Zhao Z., Harris B., Hu Yun., Harmon T., Pentel P.R., Ehrich M., Zhang C.* Rational incorporation of molecular adjuvants into a hybrid nanoparticle-based nicotine vaccine for immunotherapy against nicotine addiction // *Biomaterials.* – 2018. – Vol. 155. – P. 165–175. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.11.021.

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF ANTI-IDIOTYPIC (SECONDARY) ANTIBODIES PRODUCED ENDOGENOUSLY AS A RESULT OF IMMUNIZATION WITH MONOCLONAL IDIOTYPIC (PRIMARY) ANTIBODIES TO TWO MORPHINE DERIVATIVES ON THE BEHAVIOR AND THRESHOLD OF NOCICEPTIVE SENSITIVITY IN RATS

Gamaley N.B.¹, Klimova T.A.¹, Abramova O.V.², Voznyakovskaya E.V.²

¹ V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology
National Scientific Research Centre on Addictions
Moscow, Russia

² V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology
Moscow, Russia

The paper presents materials on the study of the behavior of rats in the open field test and their nociceptive sensitivity after an immunization cycle with patented primary monoclonal antibodies to two morphine derivatives (6-hemisuccinyl and 3-carboxymethyl esters). It has been shown that endogenous production of anti-idiotypic (secondary, Ab2) antibodies with morphine-like action and their long-term circulation in the body does not lead to the development of withdrawal symptoms

after administration of naloxone hydrochloride, which are characteristic of opiate withdrawal, and does not change the threshold of nociceptive sensitivity in rats in the tail-flick test in response to thermal stimulation. The data obtained indicate the absence of an addictive potential in anti-idiotypic antibodies to morphine derivatives formed endogenously. The applied immunization scheme with idiotypic (primary, At1) antibodies as an antigen does not significantly affect the exploratory behavior of rats in the open field test and the pain threshold in the tail flick test in response to thermal stimulation.

Keywords: *anti-idiotypic antibodies, idiotypic antibodies, morphine derivatives, monoclonal antibodies, open field, nociceptive sensitivity, rats*