

© Коллектив авторов, 2024

УДК 615.015.4

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19058>

ISSN – 2073-8137

Влияние моноклональных антител к нейрорецепторам на содержание циклического АМФ в лимфоцитах крыс

М. В. Батурина^{1,2}, Е. В. Грудина², Э. В. Бейер¹

¹ Ставропольский государственный медицинский университет, Российская Федерация

² ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии», Ставрополь, Российская Федерация

Effect of monoclonal antibodies to neuroreceptors on cyclic AMP contents in rat lymphocytes

Baturina M. V.^{1,2}, Grudina E. V.², Beyer E. V.¹

¹ Stavropol State Medical University, Russian Federation

² Center for Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy LLC, Stavropol, Russian Federation

Изучено влияние моноклональных антител (IgG) к дофаминовым рецепторам 1 и 2 типов (DR1 и DR2) и NMDA-рецепторам (субъединицы NR2A и NR2B) на уровень циклического АМФ (ц-АМФ) изолированных лимфоцитов. Готовили растворы каждого антитела в концентрациях 3, 30 и 300 нг/мл, а также комбинации антител: NR2A+DR1; NR2A+DR2; NR2B+DR1; NR2B+DR2. Для каждой комбинации антител использовали растворы с концентрацией 3х300 нг/мл, 30х30 нг/мл и 300х3 нг/мл. На изолированные лимфоциты крови здоровых крыс воздействовали *in vitro* растворами антител и их комбинаций. В контрольной серии опытов использовался раствор, не содержащий антител. Все растворы, содержащие отдельные антитела, снижали уровень ц-АМФ в лимфоцитах по сравнению с контрольной серией опытов. Наибольшее снижение ц-АМФ было получено при применении антител к NR2A в концентрациях 30 и 300 нг/мл, антител к NR2B в концентрациях 3 и 300 нг/мл. Раствор антител к DR1 снижал содержание ц-АМФ сильнее, чем антител к DR2. При комбинации антител в растворах происходило взаимное усиление или ослабление действия. Потенцирование эффекта антител с выраженным снижением уровней ц-АМФ было обнаружено при использовании NR2A+DR2 в концентрациях 3х300 нг/мл. Устранение действия антител на уровень ц-АМФ было получено при использовании антител к NR2A+DR1 (в концентрациях 30х30 нг/мл) и NR2B+DR1 (300х3 нг/мл). В этих случаях уровни ц-АМФ лимфоцитов не отличались от таковых в контрольной серии опытов. При комбинации антител NR2A+DR2 в концентрации 30х30 нг/мл действие на содержание ц-АМФ ослаблялось.

Ключевые слова: антитела, NMDA-рецепторы, дофаминовые рецепторы, лимфоциты, циклический АМФ

The study implied analyzing the effect that monoclonal antibodies (IgG) to dopamine receptors Type 1 and 2 (DR1 and DR2) and NMDA receptors (NR2A NR2B subunits) have on the cyclic AMP (c-AMP) levels of isolated lymphocytes. Per each antibody there were solutions prepared at concentrations of 3 ng/ml, 30 ng/ml and 300 ng/ml, as well as the Antibody combinations were prepared: NR2A+DR1; NR2A+DR2; NR2B+DR1; NR2B+DR2. Solutions with the concentration of each antibody were prepared for each combination: 3x300 ng/ml; 30x30 ng/ml; 300x3 ng/ml. Isolated blood lymphocytes of healthy rats were treated in vitro with solutions of antibodies and their combinations. The control series of experiments relied on a solution containing no antibodies. All solutions containing individual antibodies had a greater reducing effect on the c-AMP level in lymphocytes if compared to the control series. The most significant decrease in c-AMP was obtained using antibodies to NR2A at concentrations of 30 and 300 ng/ml, antibodies to NR2B 3 and 300 ng/ml. Solutions of antibodies to DR1 reduced c-AMP more strongly than antibodies to DR2. A combination of antibodies in solutions resulted in a mutually enhanced or weakened effect. Potentiation of the effect of antibodies with a significant decrease in c-AMP levels was identified when using NR2A+DR2 at concentrations of 3x300 ng/ml. The effect of antibodies on the c-AMP level could be eliminated through using antibodies to NR2A+DR1 (concentrations: 30x30 ng/ml) and NR2B+DR1 (300x3 ng/ml). In these cases, the c-AMP levels in lymphocytes featured no difference from the control series of experiments. In case there was a combination of NR2A+DR2 antibodies at a concentration of 30x30 ng/ml, the effect on the c-AMP content proved weakened.

Keywords: antibodies, NMDA receptors, dopamine receptors, lymphocytes, cyclic AMP

Для цитирования: Батурина М. В., Грудина Е. В., Бейер Э. В. Влияние моноклональных антител к нейрорецепторам на содержание циклического АМФ в лимфоцитах крыс. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2024;19(3):257-259. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19058>

For citation: Baturina M. V., Grudina E. V., Beyer E. V. Effect of monoclonal antibodies to neuroreceptors on cyclic AMP contents in rat lymphocytes. *Medical News of North Caucasus.* 2024;19(3):257-259. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19058> (In Russ.)

ц-АМФ – циклический аденозинмонофосфат
NMDA-рецепторы – N-метил-D-аспартатные рецепторы

DR1 – дофаминовый рецептор 1 типа
DR2 – дофаминовый рецептор 2 типа

В последние годы активно обсуждается сходство регуляторных механизмов головного мозга и иммунной системы организма [1]. Установлено, что ряд нейрорецепторов, в частности NMDA и дофаминовые рецепторы, имеются на мембранах лимфоцитов крови [2]. В связи с этим представляется вполне обоснованным использование лимфоцитов *in vitro* для изучения активности глутамат- и дофаминергической систем у пациентов с психическими заболеваниями [3].

Ранее нами было обнаружено, что длительное введение животным нейролептиков приводит к накоплению в крови аутоантител к NMDA и дофаминовым рецепторам [4], а воздействие сыворотки крови с высоким содержанием аутоантител к нейрорецепторам способно вызывать снижение *in vitro* уровней ц-АМФ в изолированных лимфоцитах крыс [5]. В связи с этим представлялось интересным изучить в эксперименте *in vitro* влияние специально изготовленных моноклональных антител к NMDA и дофаминовым рецепторам на содержание ц-АМФ в изолированных лимфоцитах крови крыс.

Материал и методы. Для опытов были использованы моноклональные антитела (IgG) к дофаминовым рецепторам (DR1 и DR2) и к NMDA-рецепторам (субъединицам NR2A и NR2B) производства Cloud-Clone Corp. (США/КНР). Готовились растворы антител к DR1, DR2, NR2A и NR2B на основе забуференного изотонического раствора натрия хлорида в концентрации 3, 30 и 300 нг/мл для каждого. Были приготовлены растворы, содержащие три комбинации антител к NR2A и DR1 в концентрациях каждого антитела: 3 и 300 нг/мл, 30 и 30 нг/мл и 300 и 3 нг/мл. Аналогичным образом были подготовлены растворы трех комбинаций антител к NR2A и DR2, антител к NR2B и DR1, а также к NR2B и DR2.

Изучали влияние полученных растворов антител на содержание ц-АМФ в изолированных лимфоцитах здоровых интактных крыс. Метод выделения фракции лимфоцитов периферической крови здоровых интактных крыс был описан ранее [5]. Определение внутриклеточного уровня ц-АМФ в лимфоцитах проводили в соответствии с рекомендациями производителя (Cloud-Clone Corp., США/КНР). В контрольной серии опытов использовался раствор, не содержащий антител.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с применением прикладных программ STATISTICA 12 (StatSoft Inc., США). Использовали методы непараметрической статистики с определением медианы, 1–3 квартилей [Me (Q1–Q3)] и оценкой статистической достоверности различий с помощью критерия Манна – Уитни, так как, по данным критерия Шапиро – Уилка, распределения не соответствовали нормальному.

Результаты и обсуждение. В контрольной серии (при отсутствии антител в растворе) уровни ц-АМФ составили: Me=1810 (1759–1858) пг/мл. При использовании антител к дофаминовым рецепторам отмечалось снижение ц-АМФ в изолированных лимфоцитах. Уменьшение по сравнению с контрольной серией опытов было обнаружено при использова-

нии растворов антител DR1 и DR2 в концентрации 30 нг/мл [Me=1021 (779–1295) пг/мл] ($p=0,014$) и [Me=964 (877–1178) пг/мл] ($p=0,014$) соответственно. Заметно меньшее ограничение уровня ц-АМФ было получено при использовании раствора антител к DR2 с концентрацией 3 нг/мл [Me=1291 (1218–1551) пг/мл].

Использование растворов антител к NR2A также приводило к снижению уровней ц-АМФ в лимфоцитах по сравнению с контрольной серией опытов. При этом выраженность эффекта зависела от концентрации антител в растворах. Самые низкие значения ц-АМФ по сравнению с контролем были получены при использовании раствора антител с содержанием 300 нг/мл [Me=664 (528–1022) пг/мл] ($p=0,050$). Применение раствора в концентрации 30 нг/мл вызвало снижение количества ц-АМФ, которое составило: Me=705 (675–1167) пг/мл, а в концентрации 3 нг/мл – Me=1072 (972–1325) пг/мл ($p=0,050$).

При использовании растворов антител к NR2B также прослеживалась тенденция к снижению ц-АМФ в лимфоцитах. Самые низкие значения были получены при использовании растворов в концентрациях 3 нг/мл [Me=558 (519–731) пг/мл], ($p=0,050$) и 300 нг/мл [Me=583 (414–1111) пг/мл] ($p=0,052$).

При комбинации антител к дофаминовым и NMDA-рецепторам было установлено их модулирующее влияние на способность снижать уровни ц-АМФ в изолированных лимфоцитах в зависимости от соотношения антител в растворе. Комбинация антител к NR2A и DR2 в соотношении 3х300 нг/мл вызывала статистически достоверное уменьшение ц-АМФ по сравнению с контролем [Me=764 (742–843) пг/мл] ($p=0,014$). При соотношении антител 30х30 нг/мл содержание ц-АМФ в лимфоцитах снижалось по сравнению с контролем менее заметно [Me=1498 (1308–1563) пг/мл] ($p=0,014$). Статистически значимые различия ($p=0,028$) уровней ц-АМФ между этими сериями (NR2A и DR2 в концентрациях 3х300 нг/мл и 30х30 нг/мл) свидетельствуют о потенцировании эффектов антител к NR2A и DR2 именно в соотношении 3х300 нг/мл.

Использование растворов антител NR2A и DR1 в концентрациях 30х30 нг/мл не влияло на уровень ц-АМФ [Me=1915 (1653–1976) пг/мл], а соотношение 300х3 нг/мл приводило к заметному (статистически недостоверному) снижению ц-АМФ в сравнении с контролем [Me=1079 (950–1270) пг/мл] ($p=0,052$).

При комбинации антител к NR2B и DR1 в соотношении концентраций 300х3 уровень ц-АМФ [Me=1847 (1820–2012) пг/мл] был аналогичен таковому в контрольной серии опытов. При использовании растворов с другими концентрациями антител обнаруживалась тенденция к снижению содержания ц-АМФ в лимфоцитах.

Сочетание антител к NR2B и к DR2 только в концентрации 30х30 нг/мл вызвало статистически достоверное уменьшение ц-АМФ по сравнению с контрольной серией [Me=1300; (1120–1321)] ($p=0,014$).

Таким образом, антитела к NR2A и DR2 в соотношении 3х300 нг/мл заметно снижали уровни ц-АМФ, тогда как раздельное их использование в соответствующих концентрациях уменьшало содержание

ц-АМФ в лимфоцитах весьма умеренно. Следовательно, можно говорить о взаимном усилении действия этих антител. С другой стороны, комбинации антител к NR2A и DR1 в соотношении концентраций 30х30 нг/мл и антител к NR2B и DR1 – 300х3 нг/мл приводили к устранению способности каждого из них к снижению уровня ц-АМФ лимфоцитов. Видимо, в этом случае антитела к рецепторам блокировали действие каждого на содержание ц-АМФ в изолированных лимфоцитах.

Литература/References

1. Кузьмина У. Ш., Бахтиярова К. З., Вахитова Ю. В. Клеточные механизмы нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе: ионотропные рецепторы глутамата Т-лимфоцитов. *Медицинский академический журнал*. 2019;19(1):86-88. [Kuzmina U. S., Bakhtiyarova K. Z., Vakhitova Y. V. Cellular mechanisms of neuroimmune in multiple sclerosis: ionotropic glutamate receptors of T-lymphocytes. *Medicinskij akademicheskij zhurnal. – Medical academic journal*. 2019;19(1):86-88. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17816/MAJ191S186-88>
2. Болдырев А. А., Брюшкова Е. А., Владыченская Е. А. NMDA-рецепторы в клетках иммунной системы. *Биохимия*. 2012;77(2):160-168. [Boldyrev A. A., Bryushkova E. A., Vladychenskaya E. A. NMDA receptors in cells of the immune system. *Biohimiya. – Biochemistry*. 2012;77(2):160-168. (In Russ.)].
3. Тараскина А. Е., Насырова Р. Ф., Грунина М. Н., Заботина А. М., Иващенко Д. В. [и др.]. Дофаминергическая нейротрансмиссия лимфоцитов периферической крови – потенциальный биомаркер психических и неврологических расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2015;115(9):65-69. [Taraskina A. E., Nasyrova R. F., Grunina M. N., Zabolina A. M., Ivashchenko D. V. [et al.]. Dopamine neurotransmission of peripheral blood lymphocytes is a potential

Заключение. В выполненном исследовании показано, что воздействие моноклональных антител на дофаминовые и NMDA мембранные рецепторы изолированных лимфоцитов снижает внутриклеточные уровни ц-АМФ. Комбинация антител к обеим группам рецепторов в различных концентрациях могла как потенцировать этот эффект, так и нейтрализовать действие друг друга.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

- biomarker of psychiatric and neurological disorders. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova. – Journal of Neurology and Psychiatry named after S. S. Korsakov*. 2015;115(9):65-69. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/jnevro20151159165-69>
4. Батурина М. В., Бейер Э. В., Боев О. И. Влияние хронического введения нейролептиков на уровни нейроспецифических аутоантител в крови у крыс. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(2):243-246. [Baturina M. V., Beier E. V., Boev O. I. Neuroleptics chronic administration influence in the blood levels of neuro-specific autoantibodies in rats. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza. – Medical News of North Caucasus*. 2020;15(2):243-246. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15057>
 5. Батурина М. В. Анализ влияния сывороточных аутоантител к нейрорецепторам на изменение концентрации циклического АМФ в изолированных лимфоцитах крыс. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2024;19(1):62-64. [Baturina M. V. Analysis of the effect of serum autoantibodies to neuroreceptors on changes in the concentration of cyclic AMP in isolated rat lymphocytes. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza. – Medical News of North Caucasus*. 2024;19(1):62-64. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2024.19015>

Поступила 18.05.2024

Сведения об авторах:

Батурина Мария Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии научно-инновационного объединения; тел.: +79064120387; e-mail: nimdark@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2745-403X>

Грунина Екатерина Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник; тел.: +79034404050; e-mail: kvgrud@rambler.ru

Бейер Эдуард Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии, заведующий лабораторией фармакологии научно-инновационного объединения; тел.: +79624460600; e-mail: karokris@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3248-6212>