

БИОМЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ НАРКОЛОГИИ

ОЦЕНКА АДДИКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ПРОИЗВОДНЫМ МОРФИНА

Гамалея Н.Б.¹, Климова Т.А.¹, Берзина А.Г.¹, Ульянова Л.И.¹,
Возняковская Е.В.², Фокин Ю.В.³

natgam@mail.ru

- ¹ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского
Национальный научный центр наркологии
119002, г. Москва, Малый Могильцевский пер., 3
- ² Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского
119034, г. Москва, Кропоткинский пер., 23
- ³ Научный центр биомедицинских технологий
143442, Московская обл., Красногорский р-н, пос.
Светлые горы, вл. 1

Статья поступила 4.03.2019

Изучен возможный аддиктивный потенциал антиидиотипических (вторичных) антител к производным морфина, выделенных из сыворотки крови лошади и кролика, иммунизированных первичными моноклональными антителами к двум производным морфина: 3-карбоксиметильному и 6-гемисукцинильному, поскольку антиидиотипические антитела обладают структурным сходством с наркотическим веществом, использованным для первоначальной иммунизации. Анализ поведенческой активности крыс, иммунизированных такими антителами, после введения им налоксона гидрохлорида в тесте «Открытое поле» не выявил изменений горизонтальной и вертикальной активности или появления специфических признаков опийной абстиненции в сравнении с крысами, иммунизированными нормальным IgG лошади. Антиидиотипические антитела кролика, иммунизированного теми же моноклональными антителами,

Об авторах:

Гамалея Наталия Борисовна – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией иммунохимии Национального научного центра 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 Национального научного центра наркологии, филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Берзина Ася Григорьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории иммунохимии Национального научного центра наркологии, филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

Ульянова Людмила Ивановна – д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории иммунохимии Национального научного центра наркологии, филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России.

что и лошадь, не приводили в дозе 0,8 мг/кг массы тела к выработке у крыс условной реакции предпочтения места после 5-дневного обусловливания в челночной камере.

Ключевые слова: антиидиотипические антитела, лошадь, кролик, моноклональные антитела, морфин, аддиктивный потенциал, опиийная абстиненция.

ВВЕДЕНИЕ

Традиционные методы лечения зависимости от наркотиков и других психоактивных веществ (ПАВ) являются до сих пор малоэффективными. Разработка методов лечения и профилактики злоупотребления такими веществами, основанных на иммунологическом подходе, включая активную иммунизацию (вакцинацию), имеет важное практическое значение. Вакцинация может обеспечить долговременный эффект даже в отсутствие мотивации больного на лечение. Вакцинация оказывает меньше побочных действий, чем общепринятые фармакотерапевтические методы, изменяющие биохимию мозга. Важным преимуществом вакцинации является также ее сравнительная дешевизна. К сожалению, проведенные до настоящего времени клинические испытания конъюгированных вакцин первого поколения от кокаиновой и никотиновой зависимости не привели к удовлетворительным результатам и не получили одобрения Федерального управления по наркотикам (FDA) США [9; 11]. В настоящее время исследователи работают над усовершенствованием комбинированных вакцин, добиваясь получения более высоких титров первичных антител против конъюгата наркотика или другого ПАВ в организме вакцинированного животного.

Исследование возможности вакцинации против наркотиков опиоидного ряда, таких как морфин, героин, кодеин и др., находятся до настоящего времени еще на доклиническом этапе как в нашей стране, так и за рубежом [10].

Во всех зарубежных исследованиях комбинированная вакцина против ПАВ состоит из производного ПАВ (гаптена), конъюгированного с высокомолекулярным носителем, и адьюваната. Поскольку производство таких вакцин связано с необходимостью использования наркотических веществ, что налагает режимные ограничения на процесс производства, мы разработали другой подход – вакцинацию антиидиотипическими (вторичными) антителами, которые обладают конформационным сходством с используемым наркотическим веществом и в организме вызывают образование третичных антител, способных связать поступающий наркотик в кровяном русле, как и первичные антитела. Такие вакцины часто разрабатываются для профилактики некоторых инфекционных заболеваний, когда для вакцинации нежелательно использовать первичный антиген,

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

Фокин Юрий Владимирович – канд. биол. наук, зав. лабораторией нейротехнологий ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства».

а также против некоторых опухолевых антигенов [3]. К тому же в сравнении с комбинированными вакцинами антиидиотипические более стабильны и не могут распадаться в организме вакцинированного животного или человека на составные компоненты. В литературе нам удалось встретить только одну работу, посвященную получению антиидиотипической вакцины от кокаиновой зависимости [12]. Эта вакцина способствовала значимому снижению (на 36%) уровня наркотика, проникающего в мозг вакцинированных мышей после однократной инъекции кокаина интраперитонеально. К сожалению, нам не удалось встретить в литературе продолжения начатых исследований.

В наших предыдущих работах показано, что морфин-зависимые крысы, иммунизированные антиидиотипическими антителами, полученными в результате иммунизации мини-свиньи поликлональными первичными антителами кролика к двум производным морфина, снижали потребление наркотика в условиях свободного выбора (двухпоилочный питьевой тест) [4]. Это снижение было обусловлено, в частности, как показал иммуноферментный анализ, присутствием в сыворотке крови иммунизированных животных третичных антител, связывающих производные морфина.

Целью настоящего исследования было изучение возможного аддиктивного потенциала у антиидиотипических антител, полученных после иммунизации кролика и лошади первичными моноклональными антителами к производным морфина в тестах условной реакции предпочтения места и «Открытое поле» в экспериментах на крысах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Условная реакция предпочтения места

В экспериментах по выработке условной реакции предпочтения места (УРПМ) использованы половозрелые крысы – самки популяции Wistar с массой тела 300–350 г в количестве 12 штук, которые были произвольно разделены на две группы по 6 животных. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму. Выработку УРПМ у крыс проводили с использованием аппаратно-программного комплекса «Шелтер» (производство ООО «Нейроботикс», Россия). Эта установка позволяет в автоматическом режиме исследовать поведение грызунов, проводить видеозапись, анализировать и сохранять на видеофайлах получаемые результаты. Для выработки УРПМ у крыс челночную камеру «Шелтер» перегородкой разделяли на два отделения – светлое и темное. В первые три дня эксперимента крыс по одной помещали в светлый отсек и в течение 900 с они могли свободно переходить из одной зоны в другую. Фиксировали время нахождения животного в каждом из отсеков. В последующие пять дней проводили обусловливание. В период обусловливания проход между отсеками был перекрыт и крысы в течение 30 мин находились только в светлой зоне. Крысы первой группы (группа сравнения) ежедневно пе-

ред посадкой в светлый отсек получали внутрибрюшинно инъекцию нормального IgG кролика (nIgG) коммерческого производства (Sigma) в дозе 0,8 мг/кг в 0,2 мл физиологического раствора. Второй группе крыс (опытной) в аналогичных условиях вводили аффинно-очищенные антиидиотипические антитела (At2) кролика, иммунизированного мышинными моноклональными первичными антителами (МАТ1) к двум производным морфина (6-гемисукцинильному (ГСМ) и 3-О-карбоксиметильному (КММ)) также в дозе 0,8 мг/кг в 0,2 мл физиологического раствора. Эта доза была близка к дозам, применяемым нами в процессе иммунизации крыс. На следующий день после последнего обусловливания створку между отсеками убирала, крыс по одной помещали в светлую половину камеры и в течение 900 с позволяли животному свободно перемещаться между отсеками. Фиксировали время пребывания грызунов в каждом из отделений камеры.

Исследование поведенческой активности крыс в установке «Открытое поле»

Эксперименты проводили на 48 белых крысах-самцах популяции Wistar с первоначальной массой тела 180–200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария в течение марта-июня. Группу 1 составили животные, иммунизированные вакцинным антигеном – аффинно-выделенным из сыворотки крови лошади At2 к тем же производным морфина (n = 12). Группа 2 (n = 12) получала инъекции нормального IgG неиммунизированной лошади коммерческого производства (Sigma-Aldrich). Группа 3 сформирована животными (n = 12), иммунизированными первичным антигеном – смесью гаптен-морфина (ГСМ и КММ эфиров морфина), конъюгированных с бычьим сывороточным альбумином (БСА).

Схема иммунизации крыс включила 3 инъекции антигена (по 0,5 мг/кг массы тела) с интервалом в 14 дней: 1-я инъекция внутримышечная с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) в две точки задних конечностей, 2-я и 3-я – подкожные с неполным адъювантом Фрейнда (НАФ) в две точки вдоль хребта. На 60-й день была сделана 4-я инъекция внутривенно в хвостовую вену без адъюванта. Препараты вводили в 0,1 мл стерильного физиологического раствора. Группа 4 включила 12 крыс, получавших в те же сроки инъекции адъювантов и физиологического раствора. На 12-й день после 4-й инъекции антигенов всем крысам ввели раствор налоксона в дозе 1 мг/кг массы тела внутрибрюшинно в 0,5 мл физиологического раствора. Затем крыс сразу помещали в автоматизированные установки «Открытое поле» (LABORAS, Нидерланды) для исследования поведенческой активности в течение 15 мин.

Установка автоматически учитывала такие показатели, как горизонтальная и вертикальная двигательная активность, общая длительность периода неподвижности, величина пройденного расстояния. Наличие или отсутствие специфических признаков опийной абстиненции регистрировали вручную. Суммарный балл абстиненции представлял собой сумму отдельных признаков, умноженных на индекс (балл), определяющий специфичность данного признака. Баллы присваивались признакам в соответствии с рекомендациями С.К. Судакова и соавт.

в небольшой нашей модификации [8]. В течение 15 мин нахождения животных в установке подсчитывали вручную количество отряхиваний «мокрой собаки» (3 балла), диареи (3 балла за 1 г жидких фекалий), нарушений дыхания (2 балла), встряхиваний передними лапами и/или головой (2 балла), птоза (2 балла), скрежета зубами и/или жевания (1 балл), полоэрекции (1 балл).

Нами было показано ранее, что поведенческая активность крыс после введения указанной выше дозы налоксона или физиологического раствора не различается [5]. После поведенческих экспериментов крыс декапитировали. Кровь отбирали для получения сыворотки, в которой определяли уровень третичных антител к производным морфина с помощью непрямого варианта иммуноферментного анализа (ИФА).

Иммунобиологические вещества для анализа

Антиидиотипические антитела (Ат2) к производным морфина, являющиеся белковым прообразом первоначального антигена, были получены после 3-кратной иммунизации кроликов смесью первичных МАТ1 мыши к двум производным морфина – КММ и ГСМ эфирам морфина, конъюгированным с БСА [1; 5]. Очистку суммарной фракции иммуноглобулинов кролика от неспецифических Ат1 к Fc-фрагменту IgG мыши проводили на иммуносорбенте CNBr-сефароза 4В (Sigma-Aldrich) + IgG мыши.

Поскольку к применению у человека в нашей стране разрешены иммуноглобулины лошади, то для получения Ат2 к производным морфина была взята кобыла (возраст 9 лет, вес 450 кг, порода рысистая). Лошадь иммунизировали смесью тех же мышинных МАТ1. Схема иммунизации: инъекция №1 (1-й день) – внутримышечно в 2 точки в области крупа с ПАФ 1:1 – 10 мг антител. Инъекция №2 (14-й день) – подкожно в 2 точки в верхней области шеи с НАФ 1:1 – 10 мг антител. Инъекция №3 (75-й день) – внутримышечно в 2 точки в области крупа с НАФ 1:1 – 2 мг. Инъекция №4 (100-й день) – внутривенно в яремную вену 2 мг антител в 2 мл физиологического раствора.

Проверку специфичности антиидиотипических антител, полученных в результате иммунизации лошади мышинными МАТ1 к производным морфина, проводили непрямым методом иммуноферментного анализа (ИФА). В лунки 96-луночного полистиролового плоскодонного планшета для микротитрования (Nunc, Maxisorb) сорбировали антиген – 2-фенилазо-производное морфина, конъюгированное с лизоцимом (ФАМ-лиз) в концентрации по белку 5 мкг/мл в 0,1 М бикарбонатном буфере (рН 9,0). В каждую лунку вносили по 200 мкл раствора антигена и инкубировали в течение ночи при +4о С. После сорбции свободные центры связывания блокировали 0,3% раствором нормальной лошадиной сыворотки при инкубации в течение 1 часа при 37 °С и отмывали лунки планшета 4 раза физиологическим раствором, забуференным фосфатами с добавлением Твина-20 (ЗФР-Т), рН 7,4 и 2 раза тем же буфером без твина (ЗФР). Далее в лунки планшета вносили по 150 мкл раствора мышинных МАТ1 к производным морфина

с концентрацией 1 мкг/мл и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Затем лунки планшета отмывали (как указано выше), вносили Ат2 лошади к производным морфина в разведениях от 10 мкг/мл до 0,01 мкг/мл в буфере ЗФР-Т (150 мкл) и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Планшет отмывали 4 раза ЗФР-Т. В качестве отрицательного контроля использовали препарат IgG неиммунной лошади (Sigma-Aldrich) в тех же разведениях. После отмывки вносили пероксидазный конъюгат кроличьих антител против IgG лошади (Sigma) в разведении 1:5000 в ЗФР-Т, инкубировали 1 час при 37 °С, отмывали и вносили субстрат – хромогенную смесь: ортофенилендиамин в концентрации 1 мг/мл в 0,15 М цитратном буфере (рН 5,0), содержащем 0,015% перекиси водорода. После развития окраски в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте реакцию останавливали добавлением 50 мкл 10% серной кислоты. Учет реакции проводили с помощью фотометра «ЭФОС 9305» (Россия) при длине волны 492 нм.

Титр поликлональных Ат2 к производным морфина в сыворотке крови лошади составил 10–6 при условии добавления в реакционную смесь 1% нормальной мышинной сыворотки (для блокировки антивидовых антител лошади против IgG мыши). При добавлении 10% мышинной сыворотки титр антител снижался до 10–5, но оставался достаточно высоким. Специфичность полученных аффинных Ат2 лошади была исследована также методом прямого ИФА. Показано, что Ат2 лошади положительно реагируют с мечеными ферментом (пероксидаза хрена) Ат1 кролика к производным морфина.

Очистку Ат2 к производным морфина из сыворотки крови лошади проводили методом аффинной хроматографии на CNBr-сефарозе 4B (Sigma), связанной с Ат1 к производным морфина, выделенными из сыворотки крови мини-свиньи.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов проведена с помощью методов вариационной статистики с учетом характера распределения признаков с применением пакета программ Statistica [7] и Biostatistics [6]. В случае нормального распределения для всех показателей вычисляли выборочное среднее \bar{X} и выборочное стандартное отклонение s (для титров вычисляли средние геометрические значения). Сравнение двух групп проводили по t-критерию Стьюдента. При отклонении распределения от нормального результаты выражали в виде медианы, 25-го и 75-го процентилей и интерквартильного размаха. В этом случае сравнение нескольких независимых групп животных по одному признаку проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) по непараметрическому критерию Крускала-Уоллиса (H). В случае выявления значимого отличия проводили множественные сравнения групп между собой по критерию Ньюмена-Кейлса (q).

Все эксперименты на животных проведены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В тесте выработки УРПМ экспериментальные животные были поделены на две группы, каждая из которых состояла из шести крыс. Результаты экспериментов представлены в *табл. 1, 2*. Во всех случаях имело место нормальное распределение признаков (при вычислении критерия нормальности распределения W Шапиро-Уилка значения p были больше 0,05). Поэтому полученные данные представляли в виде выборочного среднего и стандартного отклонения. Для сравнения времени пребывания крыс в темном и светлом отсеках были применены параметрические критерии.

Таблица 1. Среднее время нахождения крыс групп 1 и 2 в темном и светлом отсеках челночной камеры до введения препаратов в течение 3 дней (фоновые показатели)

Группа крыс	Количество измерений	Время, с		
		\bar{X} (стандартное отклонение s)		
		Темный отсек	Светлый отсек	Светлый отсек (в % от 900 с)
1 (нIгG)	18	825 (48)	75 (48)	8,28 (5,35)
2 (Ат2)	18	806 (61)	94 (61)	10,43 (6,81)
t-критерий Стьюдента		1,035	1,035	-1,053
p		0,308	0,308	0,300

Как видно из *табл. 1*, обе группы обследованных крыс статистически значимо не различались по времени пребывания в темном и светлом отсеках челночной камеры до обусловливания.

В *табл. 2* представлены результаты регистрации времени пребывания крыс в темном и светлом отсеках камеры после обусловливания – во время тестирования. Как и до введения препаратов, животные обеих групп большую часть времени проводили в темном отсеке. В светлом отсеке, ассоциированном с введением исследуемых веществ, крысы группы 1 (группа сравнения) находились 91 ± 71 с, а группы 2 (опытной) – 84 ± 27 с. Крысы, получавшие при обусловливании нIгG кролика, проводили в светлом отсеке в среднем $10,03 \pm 7,92$ процента от общего времени тестирования (900 с), а крысы опытной группы – $9,32 \pm 23,0$ процента. Эти значения не отличались значимо от фоновых. По времени пребывания в темном отсеке крысы обеих групп также значимо не различались. Вместе с тем известно, что морфин при тестировании на выработку УРПМ проявляет высокий аддиктивный потенциал. Так, при введении его в дозе 5,0 мг/кг у крыс значимо возрастало время нахождения в отсеке, связанном с введением наркотика [2].

Таблица 2. Среднее время нахождения крыс групп 1 и 2 в темном и светлом отсеках челночной камеры после выработки УРПМ

Группа крыс	Количество измерений	Время, с		
		\bar{X} (стандартное отклонение s)		
		Темный отсек	Светлый отсек	Светлый отсек (в % от 900 с)
1 (nlgG)	6	810 (71)	91 (71)	10,03 (7,92)
2 (At2)	6	816 (27)	84 (27)	9,32 (3,02)
t-критерий Стьюдента		-0,193	0,226	0,205
P		0,850	0,826	0,842

При исследовании поведения крыс в установке «Открытое поле» критерия нормальности распределения Шапиро-Уилка W и уровня значимости P для исследованных показателей поведенческой активности у всех групп крыс в некоторых случаях P оказался ниже 0,05, т.е. распределение отличалось от нормального. Поэтому полученные результаты представлены в виде медианы, нижнего квартиля (25-й процентиль) и верхнего квартиля (75-й процентиль) – даны в скобках в виде интерквартильного размаха (табл. 3).

Таблица 3. Показатели поведенческой активности крыс в автоматизированной установке «Открытое поле» и суммарный балл опийного абстинентного синдрома после цикла иммунизаций и введения налоксона

Показатель	Группа крыс			
	1	2	3	4
Горизонтальная активность, с	24 (12–34)	24 (17–31)	14 (7–36)	14 (4–32)
Вертикальная активность, с	209 (136–314)	209 (161–255)	166 (99–234)	196 (85–242)
Длительность неподвижного состояния, с	151 (64–220)	205 (97–297)	145 (79–309)	162 (65–256)
Пройденное расстояние, см	123 (53–242)	106 (68–171)	100 (51–173)	67 (35–131)
Суммарный балл абстиненции	5,0 (2–8)	13,0 (5–22)	12,0 (2–17)	8,5 (7–17)

Сравнение показателей поведенческой активности в четырех исследованных группах крыс по критерию Крускала-Уоллиса H не выявило значимых отличий

($p > 0,05$) при оценке горизонтальной и вертикальной активности, длительности неподвижного состояния и пройденного расстояния. По суммарному баллу абстиненции обследованные четыре группы также значимо не различались.

После поведенческих экспериментов сыворотки крови крыс, которым вводили аффинно-очищенные Ат2 лошади (группа 1), были проверены на наличие третичных антител (Ат3) к производным морфина непрямым методом ИФА с использованием в качестве антигена на твердой фазе ФАМ-лиз ($c = 10$ мкг/мл). Титр таких антител был 1 : 6400 – 1 : 12800. Эти титры оказались более высокими, чем титры Ат3 в крови крыс, иммунизированных поликлональными Ат2, полученными от кролика, иммунизированного смесью первичных МАТ1 мыши к двум производным морфина (ГСМ и КММ) [5]. Средний геометрический титр составил 1 : 1448. Этот титр сопоставим с титром третичных антител, который мы получали ранее при 3-кратной иммунизации крыс антиидиотипическими антителами к производным морфина, выделенными из крови свиньи (средний геометрический титр был 1 : 1425 [4]. Для сравнения следует отметить, что в группе 3, иммунизированной смесью двух конъюгированных с БСА производных морфина, титр первичных антител, способных, как и третичные антитела, связываться с конъюгатом ФАМ-лиз, был 1 : 102400 – 1 : 204800.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Одним из широко распространенных и обязательных методов доклинического изучения препаратов для лечения наркоманий является оценка их влияния на выработку условной реакции предпочтения места при подкреплении веществами, обладающими аддиктивным потенциалом, в частности морфином. Поскольку в данной работе использованы антиидиотипические антитела (Ат2) кролика, полученные к первичным моноклональным антителам к производным морфина, и они несут черты структурного сходства с опиатами, представлялось целесообразным оценить наличие или отсутствие у них аддиктивных свойств. Подобное исследование имеет важное значение для принятия решения о безопасном использовании создаваемой на основе подобных антител вакцины. Полученные нами результаты не выявили достоверных отличий по времени пребывания животных обеих групп в светлом отсеке, ассоциированном с введением препаратов в исследованной дозе (0,8 мг/кг массы тела), т.е. Ат2 кролика к производным морфина не обладают характерными для морфина подкрепляющими свойствами.

Проведенные нами исследования также показали, что аффинно-очищенные Ат2 лошади к тем же производным морфина, введенные крысам в виде 4 инъекций, не оказывают значимого влияния на поведение животных в установке «Открытое поле» после инъекции налоксона в сравнении с выраженным изменением поведенческой активности морфинизированных крыс после инъекции им налоксона, включая появление характерных признаков опийной абстиненции [4].

Совокупность полученных в данной работе результатов по изучению возможных аддитивных свойств у антиидиотипических антител, выделенных из крови двух видов животных (кролика и лошади), полученных к первичным мышинным моноклональным антителам к производным морфина – ГСМ и КММ, может служить доказательством в пользу безопасности разрабатываемой на основе антиидиотипических антител вакцины для лечения и профилактики зависимости от наркотиков опийной группы. Следует еще раз отметить, что исследования по разработке лошадиной антиидиотипической вакцины от опиатной зависимости проведены нами впервые в мировой практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берзина А.Г., Гамалея Н.Б., Сергеева В.Е., Трофимов А.В., Кротов Г.И., Ульянова Л.И. Получение поликлональных и моноклональных антител к двум производным морфина // Вопросы наркологии. – 2016. – №11. –12. – С. 39–53.
2. Беспалов А.Ю., Звартай Э.Э. Нейропсихофармакология антагонистов NMDA рецепторов. – СПб: Невский диалект, 2000. – 297 с.
3. Гамалея Н.Б., Берзина А.Г. Вакцины от наркотиков – новое перспективное направление профилактики злоупотребления психоактивными веществами // Наркология. – 2011. – №10. – С. 70–83.
4. 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.
5. Гамалея Н.Б., Фокин Ю.В., Ульянова Л.И., Берзина А.Г., Алимкина Л.А., Табаякова Л.А., Климова Т.А., Огнева Н.С., Капанадзе Г.Д. Способность вторичных поликлональных антител к производным морфина (вакцины) индуцировать образование третичных антител к нейтрализующей морфин биологической активностью и влиять на поведенческую активность и ультразвуковую вокализацию вакцинированных крыс // Наркология. – 2017. – №8. – С. 31–42.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
7. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиа Сфера, 2003. – 312 с.
8. Судаков С.К., Борисова Е.В., Русаков Д.Ю. Метод количественной оценки синдрома отмены у морфин-зависимых крыс // Эксперим. и клинич. фармакол. – 1994. – Т. 57. – №2. – С. 60–63.
9. Bremer P.T., Janda K.M. Conjugate vaccine immunotherapy for substance use disorder // Pharmacol. Rev. – 2017. – Vol. 69. – P. 298–315. – doi.org/10/1124/pr.117.013904.
10. Bremer P.T., Schlosburg J.E., Banks M.L., Steele F.R., Zhou Bin, 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.
11. 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.
12. Schabacker D.S., Kirschbaum K.S., Segre M. Exploring the feasibility of an anti-idiotypic cocaine vaccine: analysis of the specificity of anticocaine antibodies (Ab1) capable of inducing Ab2 β anti-idiotypic antibodies // Immunology. – 2000. – Vol. 100. – P. 48–56. – doi: 10.1046/j.1365-2567.2000.00004.x.

ASSESSING ADDICTIVE POTENTIAL OF ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES TO MORPHINE DERIVATIVES

Gamaleya N.B.¹, Klimova T.A.¹, Berzina A.G.¹, Ulyanova L.I.¹,
Voznyakovskaya E.V.², Fokin Yu.V.³

¹ V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology
National Scientific Research Centre on Addictions
3, Malyi Mogiltsevsky per., Moscow, 119002, Russia

² V. Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology
23, Kropotkinsky per., Moscow, 119034, Russia

³ Scientific Centre for Biomedical Technologies
1, Svetlye gory pos., Krasnogorsk district, Moscow region, 143442, Russia

A possible addictive potential of anti-idiotypic (secondary) antibodies to morphine derivatives isolated from blood serum of a horse or a rabbit immunized with primary monoclonal antibodies to two morphine derivatives (3-carboxymethyl and 6-hemisuccinyl) was examined, considering that anti-idiotypic antibodies have a structural similarity to the narcotic drug used for the initial immunization. Analysis of the behavioral activity of rats immunized with such antibodies, after administration of naloxone hydrochloride, did not reveal changes in their horizontal and vertical activity in the open-field test or the appearance of specific signs of opiate withdrawal as compared with rats immunized with normal equine IgG. Anti-idiotypic antibodies from a rabbit immunized with the same monoclonal antibodies as in the horse did not induce the development of a conditioned place preference in rats (0.8 mg/kg) after 5-day conditioning using Shuttle Box Test.

Keywords: *anti-idiotypic antibodies, horse, rabbit, monoclonal antibodies, morphine, addictive potential, opiate withdrawal.*