

ПСИХОИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕНИБУТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПЕРТИРЕОЗЕ

М.А. Самотруева¹, И.Н. Тюренков², С.В. Прилучный¹,
М.М. Магомедов¹, Е.Б. Хлебцова¹

¹ ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия,

² ГОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет

М.А. Самотруева – канд. мед. наук, доцент кафедры фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия; И.Н. Тюренков – профессор, доктор медицинских наук, зав. кафедрой фармакологии и биофармации факультета усовершенствования врачей ГОУ ВПО Волгоградский государственный медицинский университет; С.В. Прилучный – соискатель кафедры фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия, врач-ординатор МУЗ АМ ОКБ; М.М. Магомедов – соискатель кафедры фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия, врач-интерн МУЗ ГКБ № 2; Е.Б. Хлебцова – доктор медицинских наук, зав. кафедрой фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии ГОУ ВПО Астраханская государственная медицинская академия

На модели экспериментального гипертиреоза показано психоиммуномодулирующее действие фенибута. Установлено, что фенибут (при внутрибрюшинном введении в дозе 25 мг/кг) способен восстанавливать гуморальную иммунореактивность, а также ликвидировать нарушения поведенческих реакций, возникающие в результате индуцированного гипертиреоза.

Ключевые слова: фенибут, экспериментальный гипертиреоз, психоиммуномодулирующая активность.

Psychoimmunomodulating activity of Phenibut under conditions of experimental hyperthyroidism

М.А. Samotrueva¹, I.N. Tyurenkov², S.V. Priluchny¹,
M.M. Magomedov¹, E.B. Khlebtsova¹

¹ Astrakhan State Medical Academy, Pharmacognosy with course of pharmaceutical technology and biotechnology Chair,

² Volgograd State Medical University, Pharmacology and Biopharmacy Chair, Department of Postgraduate Medical Training,

Psychoimmunomodulating action of Phenibut has been shown on the model of experimental hyperthyroidism. It has been found that the drug (intra-abdominal injection in the dose 25 mg/kg) is able to restore humoral immunoreactivity and liquidate disturbances of the behaviour reactions appearing in the result of induced pathology as well.

Key words: phenibut, experimental hyperthyroidism, psychoimmunomodulating activity.

Введение

Поиск лекарственных средств коррекции вторичных нарушений, развивающихся при патологии щитовидной железы, стал предметом исследований одного из новых направлений эндокринологии – экспериментальной и клинической тиреоидологии, так как отмечается неуклонный рост распространенности заболеваний щитовидной железы, тяжесть те-

чения и широкий спектр клинических проявлений, обусловленных различными патогенетическими факторами [6, 7].

Компонентом патологического симптомокомплекса при гиперфункции щитовидной железы является психопатологическая составляющая, проявляющаяся повышенной возбудимостью, раздражительнос-

тью, немотивированной тревогой, навязчивыми страхами, эмоциональной неустойчивостью и др. [1]. Наряду с нарушениями психоэмоционального состояния отмечаются изменения и в системе клеточного и гуморального иммунитета, ведущие к снижению резистентности организма или сопровождающиеся аутоиммунной гиперреактивностью, нередко лежащей в основе прогрессирующего течения заболевания [5, 6]. Сказанное выше актуализирует поиск препаратов, способных наряду с положительным влиянием на психоэмоциональный статус организма устранять нарушения и в системе иммунитета, тем самым проявляя психоиммуномодулирующие свойства.

Интерес представляет фенибут, являющийся производным естественного нейромедиатора — γ -аминомасляной кислоты (ГАМК). В проведенных нами ранее исследованиях [2, 3] было показано, что препарат проявляет психотропные и иммуотропные эффекты на различных моделях иммунопатологии. Учитывая наличие причинно-следственной связи между иммунным дисбалансом и патологией щитовидной железы [7], считаем актуальным изучение корригирующей способности фенибута на модели экспериментального гипертиреоза, чему и посвящена представленная работа.

Материал и методы

Исследование выполнено на 72 крысах-самках линии Вистар в возрасте 5–6 мес, находящихся в диеструсе. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96) и Приказу Минздрава РФ №267 от 19.06.03. “Об утверждении правил лабораторной практики” (GLP) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.). Все экспериментальные мероприятия с животными во избежание влияния на результаты исследований биоритмов проводились в один и тот же интервал времени (14–19 ч).

В ходе исследования поставлены 3 серии опытов: в первой и второй сериях изучали влияние фенибута на гуморальную и клеточную иммунореактивность животных с гипертиреозом соответственно, в третьей — была проведена оценка психомодулирующего действия препарата также на фоне указанной патологии. Животные каждой серии были распределены на 3 группы по 8 особей в каждой: контрольную группу, группу животных с гипертиреозом и опытную группу. Животным контрольной группы вводили интраперитонеально стерильный 0,9% раствор натрия хлорида в эквивалентном объеме. Для индукции экспериментального гипертиреоза использовали трийодтиронин

(Берлин-Хеми, Германия), который вводили внутривенно в дозе 50 мкг/кг в течение 21 дня. После прекращения введения гормонального препарата особи опытной группы с патологией получали интраперитонеально фенибут в дозе 25 мг/кг курсом 14 дней; последнее введение препарата осуществляли за сутки до выведения животных из эксперимента.

Для подтверждения формирования указанной патологии обращали внимание на следующие показатели: ректальная температура, особенности шерстного покрова, поведение животных и масса тела.

Иммунный статус экспериментальных животных изучали на модели первичного иммунного ответа на корпускулярный антиген — эритроциты барана (ЭБ), оценивая выраженность изменений показателей иммунитета. Изучение влияния фенибута на гуморальное звено иммуногенеза осуществляли на основе реакции прямой гемагглютинации (РПГА) [4]. Иммунизацию проводили однократно интраперитонеально в дозе $2 \cdot 10^8$ ЭБ в 500 мкл стерильного 0,9% раствора натрия хлорида. Постановку РПГА осуществляли на 7-е сутки после иммунизации. Титр антител выражали в среднегеометрических показателях (Ig). Изучение влияния фенибута на клеточное звено иммунного ответа проводили на основе реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) [4]. Иммунизацию животных проводили однократно подкожно в подлопаточную область в дозе $5 \cdot 10^8$ ЭБ в 200 мкл стерильного 0,9% раствора натрия хлорида. Для выявления сенсибилизации на 5-е сутки вводили разрешающую дозу антигена 10^8 ЭБ в “опытную” лапу, в “контрольную” лапу — стерильный изотонический раствор натрия хлорида. Учет интенсивности местной реакции проводили через 24 ч, подсчитывая индекс РГЗТ (ИР) по формуле:

$$\text{ИР} = (M_o - M_k) / M_k \cdot 100\%,$$

где M_o — масса “опытной” лапы, M_k — масса “контрольной” лапы.

Поведение лабораторных животных изучали с использованием общепринятых психофармакологических тестов “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ), “открытое поле” (ОП) и плавающий тест “отчаяния” Porsolt [4].

ПКЛ представляет собой квадратную площадку (14 × 14 см) и четыре расположенных перпендикулярно рукава (50 × 14 см), два из которых ограничены по бокам темными бортами высотой 40 см — закрытые рукава, а два других являются открытыми. Лабиринт приподнят над полом на 70 см. Во время тестирования животное помещалось на центральную квадратную площадку между рукавами. Регистрируемые параметры: общее время нахождения в открытых рукавах, длительность пребывания в централь-

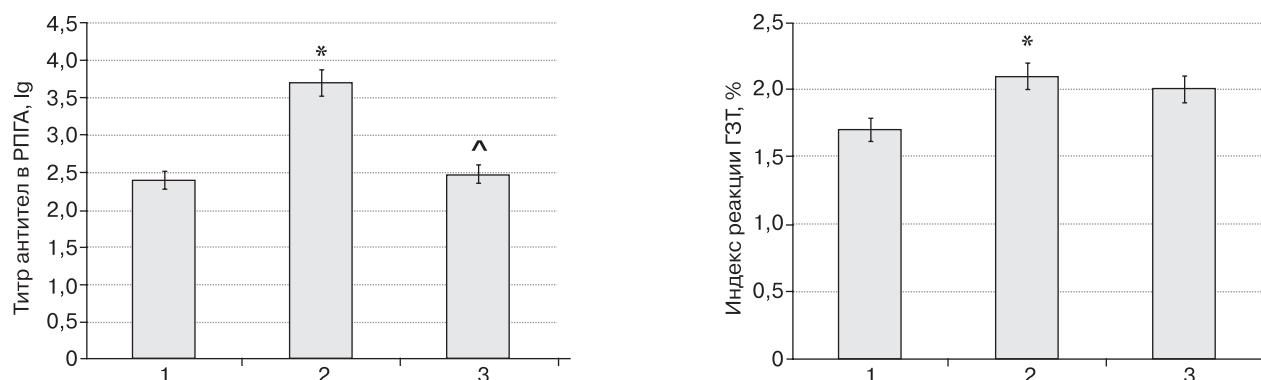


Рис. 1. Влияние фенибута на формирование РПА и РГЗТ у крыс с экспериментальным гипертиреозом. Здесь и на рис. 2–4: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ по сравнению с контролем; ^ – $p < 0,05$; ^^ – $p < 0,01$; ^^ – $p < 0,001$ по сравнению с животными с гипертиреозом.

1 – контроль (изотонический раствор натрия хлорида); 2 – модель гипертиреоза; 3 – модель гипертиреоза + фенибут (25 мг/кг).

ной зоне, число переходов из одного рукава в другой, число “свешиваний” с открытых рукавов, число стоек и актов кратковременного груминга.

Для проведения поведенческого тестирования животных в ОП требуется квадратная установка размером 80 × 80 см, ограниченная бортами высотой 60 см. Поле (с выделением центральной зоны) разделено на 25 равных квадратов, на пересечении которых расположено 16 отверстий (“норок”) диаметром 3 см. Освещенность центральной зоны 100 Лк. Во время тестирования животное помещалось непосредственно на пол в центральную зону площадки. Регистрируемые параметры: горизонтальная (пересеченные квадраты) и вертикальная (стойки) двигательная активность, изучение “норок”, количество актов кратковременного груминга [4].

Для постановки плавательного теста “отчаяния” Porsolt используется стеклянный цилиндр диаметром 20 см и высотой 40 см, на 2/3 объема наполненный водой температуры $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Регистрируемые параметры: время активного плавания, латентный период до первой иммобилизации и общее время иммобилизации [4].

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью следующих пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), BIOSTAT 2008 Professional 5.8.4.3. На первом этапе рассчитывали групповые показатели суммарной статистики – среднюю арифметическую величину (M) и ошибку средней (m), а также проводили визуализацию распределения значений с помощью частотных гистограмм. Анализ характера полученных результатов позволил использовать параметрический метод с определением t -критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали эффекты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

У животных с экспериментальным гипертиреозом наблюдалось повышение ректальной температуры (у крыс с патологией температура достигала $39,3 \pm 0,2^\circ\text{C}$, тогда как в контрольной группе – $37,4 \pm 0,14^\circ\text{C}$); изменение шерстного покрова (редкий, с участками облысения); изменение поведения по астеническому типу; потеря массы тела, которая составляла за период наблюдения 23% ($p < 0,05$).

Анализ иммунного статуса животных показал, что на фоне указанной патологии наблюдалась активация специфического антиэритроцитарного ответа, что проявлялось в достоверном увеличении титра антител в РПА (более чем на 35%) и индекса РГЗТ (на 20%) по сравнению с аналогичными показателями у интактных животных контрольной группы № 1 (рис. 1).

При изучении иммуномодулирующей активности фенибута в первой серии эксперимента выявлено, что препарат при введении в дозе 25 мг/кг устранял нарушения процесса антителообразования, что проявлялось в восстановлении титра антител в РПА практически до фоновых показателей в контроле № 1 ($p < 0,05$). Следует отметить, что в отношении клеточно-опосредованных реакций препарат корректирующего действия не проявлял (см. рис. 1).

На фоне гипертиреоза у животных сформировались также нарушения психоэмоционального статуса. Так, в тесте ПКЛ наблюдалось достоверное снижение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности (уменьшалось количество стоек в темных отсеках – на 36%, “свешиваний” – на 58%), а также повышался уровень общей тревожности (сократилось время нахождения на открытых рукавах – на 60%, увеличивалось число актов кратковременного груминга – на 42%) по сравнению с аналогичными

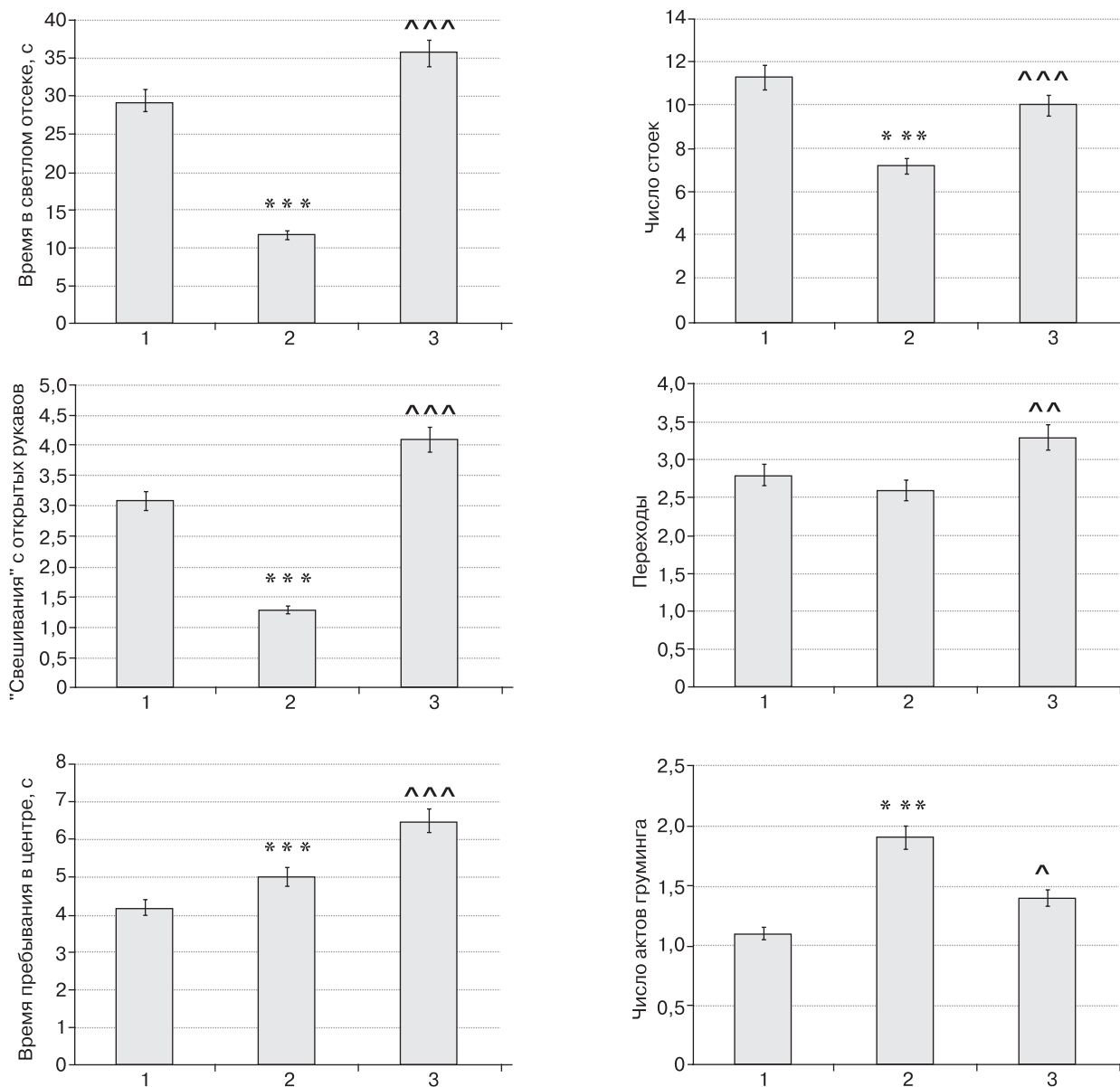


Рис. 2. Влияние фенибута на поведение крыс с экспериментальным гипертиреозом в тесте ПКЛ.

показателями в контрольной группе, что указывает на формирование у животных с гипертиреозом состояния повышенной тревожности (рис. 2).

Изучение анксиолитических свойств фенибута в тесте ПКЛ показало, что препарат способствовал улучшению психоэмоционального состояния животных. Наблюдалось увеличение времени пребывания в светлом отсеке лабиринта более чем на 65% по сравнению с таковым в группе животных с гипертиреозом ($p < 0,05$). Кроме того, у животных с экспериментальным гипертиреозом, получавших фенибут, отмечалось увеличение числа переходов между рукавами лабиринта и числа стоек более чем на 20%

($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Снижение уровня тревожности у животных с указанной патологией на фоне введения фенибута подтверждалось также уменьшением на 25 % числа актов кратковременного груминга ($p < 0,05$) (см. рис.2).

Анализируя поведение животных с экспериментальным гипертиреозом в тесте ОП, выявили угнетение локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности, что выражалось в снижении количества пересеченных квадратов на 12% ($p > 0,05$), изучения "норок" на 21% ($p < 0,05$) и числа стоек на 10% ($p < 0,05$). Формирование повышенной тревожности подтверждалось увеличением числа актов крат-

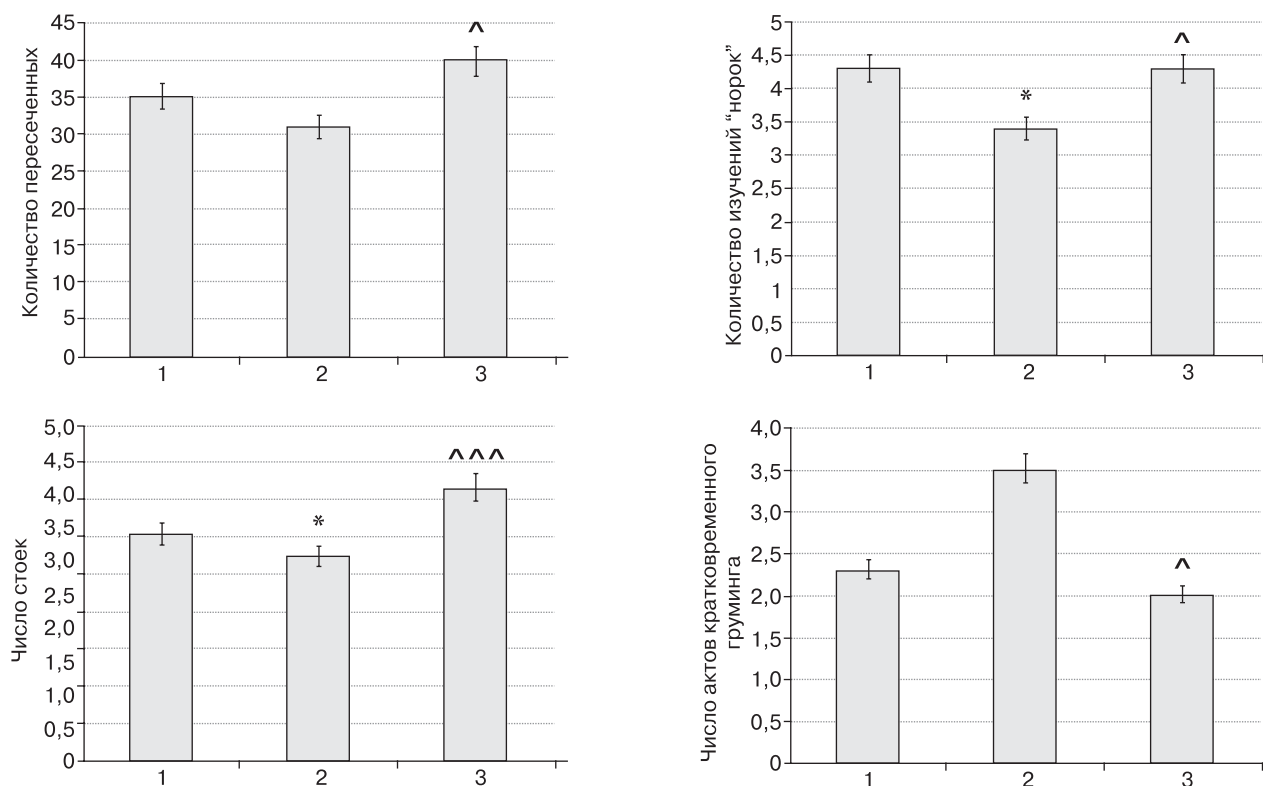


Рис. 3. Влияние фенибута на поведение крыс с экспериментальным гипертиреозом в тесте ОП.

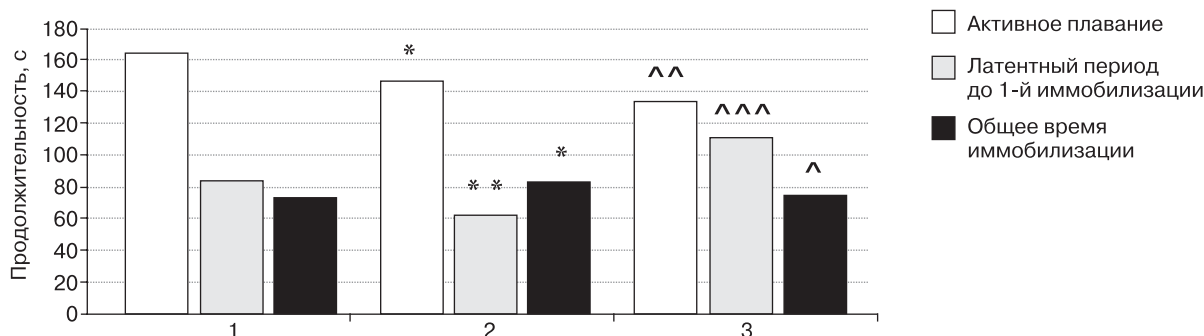


Рис. 4. Влияние фенибута на поведение крыс с экспериментальным гипертиреозом в тесте Porsolt.

ковременного груминга на 34% ($p < 0,05$) (рис. 3). У крыс с экспериментальным гипертиреозом, получавших фенибут, регистрировалась более высокая горизонтальная и исследовательско-поисковая активность, т.е. увеличивалось более чем на 20% количество пересеченных квадратов, стоек и обследованных норок ($p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Фенибут у животных с гипертиреозом уменьшал также количество актов кратковременного груминга (см. рис. 3).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о способности фенибута устранять проявления ситуативной тревожности у животных с экс-

периментальным гипертиреозом. В реальной клинической практике у больных с гипертиреозом чаще отмечаются тревожно-депрессивные нарушения, с целью подтверждения которых в эксперименте мы провели также изучение поведения животных в тесте Porsolt. У животных с экспериментальным гипертиреозом отмечалось формирование выраженной депрессивной симптоматики, что проявлялось в статистически значимом уменьшении времени активного плавания ($p < 0,05$) и латентного периода до первой иммобилизации ($p < 0,01$), а также в увеличении общего времени иммобилизации ($p < 0,05$) (рис. 4). У животных с указанной патологией, которым вво-

дили фенибут, наблюдали увеличение латентного периода до первой иммобилизации ($p < 0,001$) и уменьшение суммарной продолжительности иммобилизации ($p < 0,05$). Анализ полученных данных свидетельствует о наличии у фенибута антидепрессивных свойств, проявившихся у животных с экспериментальным гипертиреозом (см. рис. 4).

Обобщая результаты, полученные при изучении влияния фенибута на поведение и иммунный статус лабораторных животных с экспериментальным гипертиреозом, следует отметить, что препарат способен нивелировать изменения в процессе антителообразования, а также оказывать благоприятное влияние на психоэмоциональную сферу животных, что позволяет отнести его к психоиммунокорректорам.

Выводы

1. У животных с экспериментальным гипертиреозом наблюдалась активация антиэритроцитарного иммунного ответа, что проявлялось в увеличении титра антител в РПГА и индекса РГЗТ.

2. Совокупность данных, отражающих изменение психоэмоционального статуса животных в тестах ПКЛ, ОП и Porsolt, свидетельствует о формировании тревожно-депрессивных нарушений.

3. Фенибут проявлял психоиммуномодулирующие свойства на модели экспериментального гипер-

тиреоза, восстанавливая гуморальную иммунореактивность и устраняя тревожно-депрессивные изменения в поведении животных.

Список литературы

1. Калинин А.П., Котов С.В. Неврологические расстройства при эндокринных заболеваниях. М.: Медицина, 2001.
2. Самокруева М.А., Тюренков И.Н., Теплый Д.Л. и др. Иммунорегуляторное действие фенибута в условиях липополисахарид-индуцированного иммунного стресса. Экспер. клин. фармакол. 2010; 5:30–32.
3. Тюренков И.Н., Самокруева М.А., Кулешевская Н.Р., Сережникова Т.К. Экспериментальное обоснование применения фенибута как модулятора иммунного ответа. Фармация 2010; 4: 42–44.
4. Хаитов Р.М., Гуцин И.С., Пинегин Б.В. и др. Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. М., 2005.
5. Bittencourt C.S., Azzolini A.E., Ferreira D.A., Assis-Pandochi A.I. Antibody responses in hyperthyroid rats. Int. Immunopharmacol. 2007; 7: 989–993.
6. Klecha A.J., Genaro A.M., Lysionek A.E. et al. Experimental evidence pointing to the bidirectional interaction between the immune system and the thyroid axis. Internat. J. Immunopharmacol. 2000; 22: 491–500.
7. Wang H.-C., Klein J.R. Immune function of thyroid stimulating hormone and receptor. Crit. Rev. Immunol. 2001; 21: 323–337.