

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

ПСИХОИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА БАКЛОФЕНА

М. А. Самотруева¹, И. Н. Тюренков², А. Н. Овчарова¹,
М. М. Магомедов¹, Е. Б. Хлебцова¹

На крысах линии Вистар с циклофосфамидной иммунодепрессией и липополисахаридным иммунным стрессом изучена психоиммуномодулирующая активность ГАМК_B-миметика баклофена. Установлено, что стимуляция ГАМК_B-рецепторов у животных с гипофункцией иммунной системы способствует восстановлению клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа, тогда как в условиях гиперреактивности иммунитета модулирующее действие баклофена проявляется только в отношении клеточно-опосредованной реакции. Показано, что баклофен устраняет психоэмоциональные нарушения, развивающиеся в условиях циклофосфамид- и липополисахарид-индуцированной иммунопатологии. Полученные результаты свидетельствуют об участии ГАМК_B-рецепторов в процессах психоиммуномодуляции.

Ключевые слова: баклофен, циклофосфамид, липополисахарид, психоиммуномодуляция, иммунодепрессия, иммунный стресс

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы внимание исследователей привлекает проблема взаимодействия иммунной, нервной и эндокринной систем, объединяющих их в единый структурно-функциональный блок [1, 4, 5]. Иммунные функции стали рассматривать как некую составляющую нейроэндокринной активности, а иммунный ответ, как выяснилось, невозможен без содружественного участия нервной и эндокринной систем. Указанные отношения “замыкаются” посредством влияния биологически активных веществ на чувствительные нервные окончания (афферентное звено) и продукцию нейропептидов, нейромедиаторов, гормонов и цитокинов (эфферентное звено). Кроме того, структурно-функциональная интеграция нервной и иммунной систем подтверждается способностью иммунокомпетентных клеток синтезировать нейромедиаторы, гормоны и нейропептиды, а клеток нервной системы — цитокины и другие иммуномедиаторы [1].

Одним из основных медиаторов, осуществляющих регуляцию нейроиммунных взаимодействий, является гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). В центральной и периферической нервной системе, а также на клетках иммунокомпетентных органов различают ГАМК_A, B, C рецепторы [6]. Имеющиеся в литературе сведения по изучению роли ГАМК_B-рецепторов в ре-

гуляции активности иммунной системы и процессов психонейроиммуномодуляции немногочисленны и противоречивы. Так, по данным [2], стимуляция ГАМК_B-рецепторов баклофеном приводит к снижению интенсивности иммунного ответа, обусловленной, по мнению авторов, либо снижением возбудимости дофаминергических нейронов в черной субстанции и вентральной тегментальной области, либо активацией ауторецепторов, что тормозит выделение ГАМК. В работе [3] показано, что баклофен не обладает иммуностропным действием. По данным наших исследований, посвященных изучению иммунокорригирующих свойств баклофена при экспериментальном иммунодефиците, показано, что препарат устраняет циклофосфамидную иммунодепрессию, способствуя восстановлению антителообразования и клеточной реакции ГЗТ иммунного ответа, а также восстановлению лимфопролиферативных процессов в органах иммунной системы [5, 7].

Учитывая доказанную многими авторами “вовлеченность” нейроиммунных механизмов (нередко, обусловленных дефицитом нейро- и иммуномедиаторных систем) в развитие большинства патологических процессов, представляется актуальным изучение психоиммуномодулирующих свойств ГАМК-ергических средств, в частности ГАМК_B-миметика баклофена, чему и посвящена представленная работа.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки психоиммуномодулирующего действия баклофена изучен и проанализирован ряд параметров, характеризующих влияние исследуемого вещества на поведенческий и иммунный гомеостаз в условиях цик-

¹ Кафедра фармакогнозии с курсом фармацевтической технологии и биотехнологии (зав. — Е. Б. Хлебцова), ГОУ ВПО “Астраханская государственная медицинская академия Росздрава”, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121.

² Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ (зав. — проф. И. Н. Тюренков), ГОУ ВПО “Волгоградский государственный медицинский университет Росздрава”, Волгоград.

лофосфамид- и ЛПС-индуцированных иммунных нарушений.

Исследование проведено на 96 крысах линии Вистар обоего пола, средней массой 220 г. В I серии изучена активность баклофена в условиях иммунной недостаточности — циклофосфамид (ЦФ, Красфарма ОАО, Россия) в дозе 125 мг/кг, внутривнутрибрюшинно), во II — на модели иммунного стресса — липополисахарид *Pseudomonas aeruginosa*, (ЛПС, НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи / Медгамал, Россия) в дозе 100 мкг/кг, внутривнутрибрюшинно). Животные каждой серии были разделены на следующие группы ($n = 8$): контроль 1 (в качестве плацебо — физиологический раствор), контроль 2 (модели иммунопатологии) и опыт (модель иммунопатологии + баклофен в дозе 2 мг/кг, внутривнутрибрюшинно 5 дней). Поведенческие реакции оценивали в стандартных тестах ситуативной тревожности: “открытое поле” (ОП) и приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) [8]. Об активности иммунной системы судили по характеру формирования реакций пассивной гемоглолитинации (РПГА) и гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ). В качестве антигенного стимула использовали эритроциты барана (ЭБ) [8]. При постановке РГЗТ иммунизацию животных проводили однократно подкожно $2 \cdot 10^8$ ЭБ в объеме 100 мкл. Разрешающую дозу ЭБ (10^8 в объеме 20 мкл) вводили на 5-й день после сенсибилизации под апоневротическую пластинку одной из задних конечностей (“опытная” лапа), в контрлатеральную (“контрольную” лапу) — физиологический раствор. Через 24 ч оценивали интенсивность местной реакции и подсчитывали индекс реакции (ИР ГЗТ) по формуле: $ИР = (M_o - M_k) / M_k \cdot 100 \%$, где M_o — масса “опытной” лапы, M_k — масса “контрольной” лапы. При постановке РПГА иммунизацию ЭБ осуществляли однократно внутривнутрибрюшинно в дозе 10^8 в 100 мкл объема. Через 7 дней после иммунизации животных выводили из эксперимента с использованием хлороформа, получали сыворотку. Для инактивации комплемента сыворотку прогревали при температуре 56 °С в течение 30 мин. РПГА для подавления неспецифического связывания антител проводили в 50 мкл 0,5 % раствора бычьего сывороточного

альбумина (Sigma), в которой последовательно двукратно разводили исследуемые сыворотки с добавлением 25 мкл 1 % взвеси ЭБ. Предварительный учет результатов РПГА производили через 1 ч инкубации при $t 37$ °С, реакцию учитывали окончательно через 18 ч ($t + 4$ °С). Титр антител выражали в среднегеометрических показателях (lg).

Эксперименты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (2004/10/ EC) [9]. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли согласно “Правилам работ с использованием экспериментальных животных”. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США) и BIostat 2008 Professional 5.1.3.1. 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. Характер полученных результатов позволил использовать параметрический метод с определением t -критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при доверительном интервале 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения формирования антиэритроцитарного иммунного ответа показали, что в опытных группах животных с иммунодепрессией баклофен не только устраняет нарушения, но и оказывает активизирующее влияние на клеточное звено иммуногенеза (табл. 1). Восстановление клеточной иммунореактивности под влиянием исследуемого вещества подтверждается увеличением индекса реакции ГЗТ более чем на 50 % по сравнению с группой иммунодепрессированных животных ($p_2 < 0,05$), а стимулирующий эффект — увеличением показателя на 20 % по сравнению с фоновым значением в контроле 1 ($p_1 < 0,05$). Иммуностимулирующие свойства изучаемого ГАМК_B-миметика проявляются также в отношении гуморального звена иммунного ответа: на 45 % увеличи-

Таблица 1. Влияние баклофена на формирование РГЗТ и РПГА в условиях экспериментальной иммунопатологии

Экспериментальные группы	Индекс РГЗТ, $M \pm m$, %	Титр антител в РПГА, $M \pm m$, lg
<i>Циклофосфамидная иммунодепрессия</i>		
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	$16,24 \pm 0,4$	$1,09 \pm 0,12$
Контроль 2: ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	$8,9 \pm 0,6^*$	$0,49 \pm 0,1^*$
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	$19,5 \pm 1,35^\#$	$0,8 \pm 0,1^\#$
<i>Липополисахаридный иммунный стресс</i>		
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	$6,9 \pm 1,1$	$1,32 \pm 0,16$
Контроль 2: ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	$13,3 \pm 0,1^*$	$2,01 \pm 0,06^*$
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	$7,8 \pm 1,1^\#$	$2,13 \pm 0,13$

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: ЦФ — циклофосфамид, ЛПС — липополисахарид *Pseudomonas aeruginosa*;

* ($p < 0,05$) — сравнение с контролем 1; $^\#$ ($p < 0,05$) — сравнение с контролем 2.

Таблица 2. Влияние баклофена на спонтанную двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность крыс с экспериментальной иммунопатологией в тесте “открытое поле” ($M \pm m$)

Экспериментальные группы	Пересеченные квадраты	Норки	Стойки	Фризинг, с	Переходы через центр	Груминг	Болюсы
<i>Циклофосфамидная иммунодепрессия</i>							
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	21,5 ± 1,3	6,3 ± 0,9	7,0 ± 1,3	0	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,4 ± 0,1
Контроль 2: ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	12,0 ± 2,2*	3,1 ± 0,5*	1,4 ± 0,4*	36,3 ± 4,3	0	2,1 ± 0,4*	0,8 ± 0,1*
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	28,5 ± 2,4* [#]	6,9 ± 0,9 [#]	9,4 ± 1,7 [#]	4,0 ± 0,4 [#]	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,2 [#]	0,4 ± 0,1 [#]
<i>Липополисахаридный иммунный стресс</i>							
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	48,0 ± 4,9	7,5 ± 0,9	23,0 ± 2,7	4,0 ± 0,9	1,5 ± 0,1	2 ± 0,3	0
Контроль 2: ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	30,5 ± 3,3*	4,1 ± 0,9*	12,7 ± 0,9*	2,1 ± 0,9	0,87 ± 0,2*	3 ± 0,3*	0
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	29,6 ± 4,5* [#]	6,4 ± 1,1	12,2 ± 2,5*	1,4 ± 0,4*	1,1 ± 0,2	1,8 ± 0,2 [#]	0

вается титр антител в РПГА по отношению к группе животных с моделью фармакологического иммунодефицита ($p_2 < 0,05$, табл. 1).

Известно, что действие компонентов микробной клетки (прежде всего, бактериальной стенки) предопределяет функциональную активность иммунной системы организма в целом, а гиперреакция иммунной системы на липополисахарид, проявляющаяся в увеличении ряда показателей, лежит в основе многих воспалительных и аутоиммунных процессов. В связи с этим полагаем, что полноценная оценка эффективности препарата, участвующего в процессах иммунорегуляции, невозможна без исследования активности на модели экспериментального иммунного стресса, чему и посвящена 2-я серия экспериментов — изучение способности баклофена устранять нарушения, развивающиеся на фоне ЛПС-индуцированного иммунного стресса. Показано, что у животных с моделью иммунного стресса индекс РГЗТ и уровень антител в РПГА превышают показатели “нормы” в контроле 1 на 90 и 50 % соответственно ($p_1 < 0,05$), табл. 1. Баклофен в этих условиях гипериммунизации способствовал вос-

становлению клеточного иммунного ответа: индекс реакции снижен на 70 % по сравнению с контролем 2 ($p_2 < 0,05$) и практически достигает фоновых значений в группе животных, получавших физиологический раствор (табл. 1). Введение животным с моделью иммунного стресса баклофена активизирует процесс антителообразования в сравнении и с интактной группой и группой животных с патологией, что, вероятно, объясняется стимулирующим влиянием препарата на систему противовоспалительных цитокинов с “включением” механизмов защиты организма (табл. 1).

Эти данные свидетельствуют о модулирующем действии баклофена на клеточный и гуморальный иммунитет в условиях иммуносупрессии и о разнонаправленном его действии в условиях иммунного стресса, т.е. он восстанавливает в этих условиях клеточный иммунитет, но не изменяет гуморальное звено иммунного ответа.

У животных с гипо- и гиперфункцией иммунной системы в тестах ОП и ПКЛ статистически значимо уменьшаются показатели двигательной (число пересеченных квадратов в ОП, число переходов в ПКЛ) и

Таблица 3. Влияние баклофена на спонтанную двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность у крыс с экспериментальной иммунопатологией в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” ($M \pm m$)

Экспериментальные группы	Время в открытом рукаве, с	Время в закрытом рукаве, с	Стойки	“Свешивания” с открытых рукавов	Переходы	Болюсы	Груминг	“Выглядывания” из закрытых рукавов	Фризинг
<i>Циклофосфамидная иммунодепрессия</i>									
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	40,0 ± 11,0	125,8 ± 15	5,6 ± 0,8	5,1 ± 0,9	3,3 ± 0,9	0	0,5 ± 0,1	4,3 ± 0,6	3,8 ± 1,1
Контроль 2: ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	4,1 ± 0,8*	165,5 ± 4,0*	1,8 ± 0,2*	1 ± 0,2*	0,6 ± 0,2*	0,6 ± 0,1	1,5 ± 0,3*	1,3 ± 0,3*	42,8 ± 10*
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЦФ, 125 мг/кг ($n = 8$)	39,3 ± 12,2 [#]	128,1 ± 0,1 [#]	5,1 ± 0,8 [#]	3,5 ± 0,3 [#]	2,9 ± 0,7 [#]	0,1 ± 0,1 [#]	0,1 ± 0,1 [#]	3,6 ± 0,4*	0
<i>Липополисахаридный иммунный стресс</i>									
Контроль 1: физ. раствор ($n = 8$)	11,2 ± 2,7	164,3 ± 0,1	8,6 ± 0,9	1,6 ± 0,2	1,8 ± 0,3	0	0	3,4 ± 0,3	0
Контроль 2: ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	7,3 ± 1,8	170 ± 0,1*	5,4 ± 0,4*	0,6 ± 0,1*	0,9 ± 0,1*	0	0	2,1 ± 0,3*	0
Опыт: баклофен, 2 мг/кг + ЛПС, 100 мкг/кг ($n = 8$)	12,2 ± 5,2	156,4 ± 0,1* [#]	5,5 ± 0,6 [#]	1,3 ± 0,3	1,6 ± 0,2 [#]	0	0	3,8 ± 0,5 [#]	0

ориентировочно-исследовательской (количество стоек, “заглядываний” в “норки” в ОП, “свешиваний” с рукавов, выглядываний в ПКЛ) активности более чем на 40 % по сравнению с показателями поведения контрольной группы животных 1 ($p_1 < 0,05$), табл. 2, 3.

Кроме того, поведенческие параметры, отражающие общую тревожность организма (количество актов кратковременного груминга, продолжительность фризинга, количество болюсов), также достоверно превышают аналогичные показатели в контроле 1 ($p_1 < 0,05$), табл. 2, 3. Указанные изменения свидетельствуют о развитии депрессивноподобных явлений в поведении животных при иммуносупрессии и при стимуляции иммунной системы.

В опытных группах животных на фоне введения баклофена в тесте ОП наблюдается более высокая локомоторная и поисковая активность, а в тесте ПКЛ большее количество переходов из рукавов в рукава, “свешиваний” с открытых рукавов, более длительное пребывание в открытых рукавах и одновременно меньшее количество болюсов и груминга. Эти данные свидетельствуют о способности препарата устранять повышенное чувство тревоги и страха в условиях новизны обстановки в ОП, высоты и открытого освещенного пространства в ПКЛ и в результате проявлять психомодулирующий эффект.

ВЫВОДЫ

1. Баклофен способствует восстановлению клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа у жи-

вотных с циклофосфамидной иммунодепрессией. Иммуномодулирующее действие баклофена на модели иммунного стресса проявляется только в отношении клеточно-опосредованной реакции.

2. Баклофен устраняет чувство тревоги и страха у животных в условиях циклофосфамид- и липополисахарид-индуцированной иммунопатологии, восстанавливает локомоторно-поисковое поведение только в условиях иммуносупрессии.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Абрамов, Т. Я. Абрамова, И. А. Гонтова и др., *Основы нейроиммунологии*, Новосибирск (2004).
2. Л. В. Девойно, Р. Ю. Ильюченко, *Нейромедиаторные системы в психонейроиммуномодуляции: допамин, серотонин*, ГАМК, Новосибирск (1993).
3. Н. Е. Костинская, *Автореф. дис. д-ра. мед. наук*, Киев (1990).
4. М. А. Пальцев, И. М. Кветной, *Руководство по нейроиммуноэндокринологии*, Медицина, Москва (2006).
5. М. А. Самотруева, И. Н. Тюренков, *Вестн. новых мед. технологий*, № 4, 166 – 167 (2008).
6. А. В. Семьянов, *Нейрофизиология*, № 1, 82 – 92 (2002).
7. И. Н. Тюренков, М. А. Самотруева, А. Н. Овчарова, *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 43 – 45 (2008).
8. Р. М. Хаитов, И. С. Гушин, Б. В. Пинегин и др., *Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриева (ред.), Москва (2005).
9. GLP: Principles of Good Laboratory Practice as specified by national (German Chemicals Law, Annex 1, 20 June 2002) and international (OECD, Paris, 1998; EC Directive 2004 / 10 / EC, 11 February 2004).

Поступила 18.02.11

PSYCHO- AND IMMUNOMODULATOR PROPERTIES OF BACLOFEN

M. A. Samotrueva¹, I. N. Tyurenkov², A. N. Ovcharova¹, M. M. Magomedov¹, and E. B. Khlebtsova¹

¹ Pharmacognosics Chair, Astrakhan State Medical Academy, Bakinskaya ul. 121, Astrakhan, 414000, Russia;

² Pharmacology and Biopharmacy Chair, Department of Postgraduate Medical Training, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1a, Volgograd, 400131, Russia

Psycho- and immunomodulator activity of GABA_B-mimetic drug baclofen was studied on Wistar-line rats with the cyclophosphamide-induced immunosuppression and lipopolysaccharide-induced immune stress. It was established that the stimulation of GABA_B receptors in animals with the immune system hypofunction favors regeneration of the cellular and humoral components of immune response. At the same time, under the conditions of immune hyperreactivity, the modulating effect of baclofen appears only in respect of the cell-mediated immune reaction. Moreover, it was shown that baclofen suppresses psychoemotional disorders that develop under the conditions of cyclophosphamide- and lipopolysaccharide-induced immunopathology. The results obtained in this study confirm that GABA_B receptors participate in the processes of psycho- and immunomodulation.

Key words: Baclofen, cyclophosphamide, lipopolysaccharide, psycho- and immunomodulation, immunodepression, immune stress