

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ЛАДАСТЕНА НА ПОВЕДЕНИЕ И УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ У МЫШЕЙ C57BL/6 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОГО СОСТОЯНИЯ

А. В. Таллерова, Л. П. Коваленко, А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин¹

На модели стрессирования в зоосоциальном конфликте у мышей самцов линии C57BL/6 исследовали влияние ладастена в дозе 30 мг/кг после однократного и 5-дневного введения (внутрибрюшинно) на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ), цитокиновый профиль и показатели массы иммунных органов. В качестве препарата сравнения использовали имипрамин в дозе 10 мг/кг. После 3 и 15-ти дней стрессирования наблюдали уменьшение спонтанной двигательной активности и увеличение выраженности тревожного поведения в тесте ПКЛ, значимое увеличение содержания провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17 и IL-4 в сыворотке крови и изменения массы органов иммунной системы. Ладастен более заметно, чем имипрамин, устранял нарушение поведения, снижал уровни цитокинов IL-6, IL-17 и IL-4, восстанавливал массу иммунных органов мышей.

Ключевые слова: ладастен, тревожно-депрессивное состояние, поведение, провоспалительные цитокины

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что участвующие в патогенезе хронической депрессии нейровоспалительные процессы приводят к выраженным изменениям синаптической пластичности и гибели нейронов [6, 9, 10]. Данная гипотеза подтверждена увеличением в крови депрессивных пациентов провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF- α , γ IFN, простагландина E2 [6, 7, 10]. Цитокиновые маркеры воспаления продуцируются активированными макрофагами, активация иммунного ответа включена в общую схему стимуляции гипоталамус-гипофиз-надпочечниковой оси при стрессе [6, 10–12]. Установлено, что длительный прием некоторых антидепрессантов уменьшает высвобождение интерлейкинов из активированных макрофагов крови и микроглии головного мозга [3, 10]. Не исключено, что препараты, предупреждающие увеличение количества цитокинов, могут рассматриваться в качестве адъювантных средств терапии депрессии, а также предупреждения развития большого депрессивного эпизода. В предыдущих исследованиях подобные свойства были установлены у противоастенического препарата ладастена на модели LPS-индуцированного депрессивно-подобного состояния [13].

Целью настоящей работы явилось исследование влияния ладастена на поведение и цитокиновый профиль самцов мышей линии C57BL/6 на разных стадиях развития тревожно-депрессивного состояния на модели психоэмоционального социального стресса (ПЭСС).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ладастен [N-(2-адамантил)-N-(п-бромфенил)-амин] синтезирован и фармакологически изучен в НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН [2]. К настоящему

моменту у препарата выявлены психостимулирующая, анксиолитическая и иммунотропная активность [2].

Опыты проведены на мышах самцах линии C57BL/6, массой 18–20 г (питомник “Столбовая” РАМН). Животных содержали в стандартных условиях в виварии НИИ фармакологии со свободным доступом к корму и воде.

Для формирования тревожно-депрессивного состояния у самцов мышей линии C57BL/6 использовали модель зоосоциального конфликта, предусматривающую ежедневные конфронтации между самцами [4]. В результате были сформированы группы особей с приобретённым опытом перманентных поражений (жертвы). В соответствии с рекомендациями Н. Н. Кудрявцевой и соавт. [1, 4] оценка тревожно-депрессивного состояния на самцах-жертвах проводилась на стадиях острого стресса и формирования депрессии после трёх (стадия Т3) и пятнадцати (стадия Т15) дней стрессирования.

Ладастен в дозе 30 мг/кг и препарат сравнения имипрамин (“Egis”, Венгрия) в дозе 10 мг/кг вводили внутрибрюшинно однократно на 3 день стрессирования и 5-кратно, начиная с 11-го дня стрессирования. Анализ исследуемых параметров проводили через сутки после последнего введения препаратов. Выбор доз ладастена и имипрамина основан на данных проведённых ранее исследований [2, 13].

Тимус и селезенку выделяли и взвешивали, результаты выражали в относительных значениях массы органа в мг на 10 г массы мыши.

Спонтанную двигательную активность регистрировали в течение 5 мин на актометре Ugo Basile (Италия). Тревожное поведение оценивали по методике “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ). У каждого животного в течение 300 с регистрировали число заходов и время, проведённое в открытых и закрытых рукавах лабиринта. Увеличение времени нахождения в тёмных отсеках лабиринта по сравнению с контролем расценивали как проявление тревожного поведения [1].

¹ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

Таблица 1. Влияние ладастена и имиπραмина на параметры поведения самцов мышей линии C57BL/6 в условиях зоосоциального конфликта (модель сенсорного контакта)

Группы, n = 10	Спонтанная двигательная активность, у. е.	Оценка тревожного состояния по методике "ПКЛ"	
		Время в открытых рукавах, %	Время в закрытых рукавах, %
Интактный контроль	245,5 ± 11,7	16,5 ± 5,8	68,5 ± 6,2
Жертвы T3	физ. р-р	144,9 ± 15,3**	3,4 ± 1,5 ⁺
	ладастен 30 мг/кг	155,2 ± 24,1*	10,1 ± 4,1 ^{+*}
	имипрамин, 10 мг/кг	119,0 ± 16,1**	4,1 ± 1,7 ⁺
Жертвы T15(-)	физ. р-р	220,7 ± 20,8	14,2 ± 5,3
	ладастен 30 мг/кг	236,2 ± 13,1	16,8 ± 6,1
	имипрамин, 10 мг/кг	228,4 ± 16,5	15,4 ± 5,9
Жертвы T15(+)	физ. р-р	145,3 ± 29,6**	3,1 ± 1,8 ⁺
	ладастен 30 мг/кг	187,2 ± 15,2*#	9,9 ± 4,1 ^{+*}
	имипрамин, 10 мг/кг	131,0 ± 32,0**	9,8 ± 3,8 ^{+*}

Примечание. Здесь и в табл. 2 различия достоверны по *t*-критерию Стьюдента:

* — с интактным контролем, $p < 0,05$; ** — с интактным контролем, $p < 0,01$; # — с группой физ. р-р, $p < 0,05$.

Различия достоверны по непараметрическому критерию Mann-Whitney U Test: + — с интактным контролем, $p < 0,05$; • — с группой физ. р-р, $p < 0,05$. Вещества вводили внутривенно.

Концентрации цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-17, IFN- γ , GM-CSF) в сыворотке крови определяли на проточном цитометре EPICS XL 4colors с помощью панели FlowCytomix mouse Th1/Th2 10 plex, согласно протоколу фирмы-производителя "BenderMed-System".

Статистическую обработку данных проводили по *t*-критерию Стьюдента, непараметрического однофакторного дисперсионного анализа Anova; Краскела-Уоллиса и непараметрического критерия Mann-Whitney U Test.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что у животных, подвергнутых трехдневному стрессированию (стадия T3), происходит снижение спонтанной двигательной активности в 1,7 раз, уменьшается время пребывания в открытых рукавах ПКЛ на 79 %, снижается масса тимуса в 1,9 раз (табл. 2) и увеличивается содержание в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17, а также IL-4 до 125,8 ± 50,7, 42,4 ± 22,6 и 58,4 ± 26,5 пг/мл, соответственно (табл. 3).

Ладастен в дозе 30 мг/кг увеличивал двигательную активность мышей на 17,1 %, время пребывания мышей в открытых рукавах ПКЛ на 66 % и восстанавливал содержание IL-6, IL-4 и IL-17 до контрольных значений. Имипрамин при использованном режиме введения не влиял на оцениваемые параметры (табл. 1, 2, 3).

После десяти дней стрессирования самцы-жертвы делились на две группы. У животных первой группы T15(-), не подвергавшихся каким-либо воздействиям в период с 11-го по 15-й день эксперимента, параметры поведения и содержания цитокинов возвращались к контрольным значениям, при этом сохранялась сниженная масса тимуса и селезенки в 1,5 и 1,4 раза, соответственно (табл. 1, 2, 3). Животных второй группы T15(+) делили на три подгруппы. Одних продолжали стрессировать и инъекцировали физиологический раствор (контроль), другим вводили ладастен, третьим — имипрамин. У жертв T15(+) в контроле сохранялись нарушения поведения, от-

мечалось уменьшение массы тимуса в 3,2 и увеличение массы селезенки в 1,5 раз, определялось высокое содержание ($p < 0,05$) провоспалительного цитокина IL-6 – 739,8 ± 343,7 пг/мл. На фоне введения ладастена уровень IL-6 снижался в 5 раз, при этом на 23 % восстанавливалась двигательная активность, на 69 % уменьшалась выраженность тревожного поведения, регистрируемого в ПКЛ, а также на 43 % увеличивалась масса тимуса. Масса селезенки не отличалась от контрольных показателей (табл. 1, 2, 3). Имипрамин увеличивал на 68 % время пребывания мышей в открытых рукавах ПКЛ, снижал гиперплазию селезенки до контрольных показателей и не влиял на другие показатели (табл. 1, 2).

Таблица 2. Иммунокорректирующее действие ладастена и имиπραмина на массу органов иммунной системы самцов мышей линии C57BL/6 в условиях зоосоциального конфликта (модель сенсорного контакта)

Группы, n = 10	Масса тимуса, мг/10 г мыши	Масса селезенки, мг/10 г мыши
Интактный контроль	13,8 ± 2,6	37,1 ± 6,9
Жертвы T3	физ. р-р	7,4 ± 0,9*
	ладастен 30 мг/кг	9,2 ± 1,1
	имипрамин, 10 мг/кг	6,0 ± 0,8*
Интактный контроль	15,3 ± 0,8	35,9 ± 2,7
Жертвы T15(-)	физ. р-р	10,2 ± 0,9**
	ладастен 30 мг/кг	10,8 ± 1,1*
	имипрамин, 10 мг/кг	14,7 ± 1,1
Интактный контроль	28,3 ± 3,3	40,2 ± 2,2
Жертвы T15(+)	физ. р-р	8,8 ± 1,5**
	ладастен 30 мг/кг	15,2 ± 0,8*#
	имипрамин, 10 мг/кг	12,8 ± 1,6**

Таблица 3. Влияние ладастена и имипрамина на уровень провоспалительных цитокинов самцов мышей линии C57BL/6 в условиях зоосоциального конфликта (модель сенсорного контакта)

Цитокины, пг/мл	Интактный контроль	Группы						
		Жертвы ТЗ			Жертвы Т15(-)		Жертвы Т15(+)	
		физ. р-р	ладастен 30 мг/кг	имипрамин, 10 мг/кг	физ. р-р	физ. р-р	ладастен 30 мг/кг	имипрамин, 10 мг/кг
IL-6	0,0	125,8 ± 50,7*	0,0	138,4 ± 34,7*	0,0	739,8 ± 343,7**	141,5 ± 103,7*#	575,4 ± 284,2**
IL-4	2,6 ± 1,4	42,4 ± 22,6*	0,0	89,5 ± 36,7*	10,1 ± 3,4	4,6 ± 2,6	3,6 ± 2,5	8,9 ± 3,1
IL-17	9,6 ± 5,5	58,4 ± 26,5*	0,0	48,2 ± 21,1*	29,0 ± 10,8	9,5 ± 5,2	5,3 ± 2,9	8,7 ± 4,2

Примечание. Различия достоверны по непараметрическому однофакторному дисперсионному анализу Anova; Краскела-Уоллиса: * — с интактным контролем, $p < 0,05$; ** — с интактным контролем, $p < 0,01$; # — с группой физ. р-р, $p < 0,05$.

Значимое увеличение содержания интерлейкинов IL-6, IL-17 и IL-4 в сыворотке крови мышей регистрировалось на всех стадиях формирования тревожно-депрессивного состояния, что согласуется с ранее полученными экспериментальными данными [7, 10]. Концентрации других интерлейкинов оставались без изменений.

Таким образом, в условиях однократного и 5-дневного введения ладастен эффективнее антидепрессанта имипрамина снижал уровни провоспалительных цитокинов, уменьшал выраженность тревожно-депрессивного состояния и восстанавливал показатели массы органов иммунной системы.

Выявленная способность противоастенического препарата ладастен при тревожно-депрессивном состоянии снижать концентрации основных цитокиновых маркеров воспаления определяет перспективы применения ладастена в качестве средства адьювантной терапии депрессии.

ВЫВОДЫ

1. Ладастен (30 мг/кг) на стадиях острого стресса и формирования депрессии самцов мышей линии C57/BL6 значимо снижает уровни циркулирующих цитокинов IL-6, IL-17 и IL-4, уменьшает выраженность тревожно-депрессивного состояния и восстанавливает показатели массы органов иммунной системы.

2. В диапазоне использованных доз и при соответствующих схемах введения ладастен более эффективен по сравнению с классическим трициклическим антидепрессантом имипрамином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. Ф. Августинович, О. В. Алексеенко, И. В. Бакштановская и др., *Усп. физиол. наук*, **35**(4), 19 – 40 (2004).
2. Ю. В. Вахитова, Р. С. Ямиданов, В. А. Вахитов, С. Б. Середенин, *Мол. биол.*, **39**(2), 276 – 285 (2005).
3. К. В. Казанцева, *Фарматека*, **0**(3) Спецвыпуск: Психиатрия, 8 – 14 (2008).
4. Н. Н. Кудрявцева, Д. Ф. Августинович, Н. П. Бондарь и др., *Нейронауки*, **1**(9), 5 – 18 (2007).
5. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).
6. A. J. Dunn, A. H. Swiergiel, R. de Beaurepaire, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **29**(4 – 5), 891 – 909 (2005).
7. R. Dantzer, *Psychoneuroimmunology*, № 4, 284 – 287 (2007).
8. Y. K. Kim, S. K. Na, K. H. Shin, et al., *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **31**, 1044 – 1053 (2007).
9. B. E. Leonard, Ayemu Myint, *Dialogues Clin. Neurosci.*, № 8, 163 – 174 (2006).
10. B. E. Leonard, A. M. Myint, *Neurotox. Res.*, **10**(3), 1 – 12 (2006).
11. E. Obuchowicz, J. Kowalski, K. Labuzek, et al., *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **9**, 27 – 35 (2006).
12. C. Song, B. E. Leonard, *Neuroscience and behavioral reviews*, **29**, 627 – 647 (2005).
13. A. Tallerova, L. Kovalenko, A. Durnev, S. Seredenin, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **107** (Suppl. 1), 606 (2010).

Поступила 18.02.11

EFFECT OF ANTI-ASTHENIC DRUG LADASTEN ON THE LEVEL OF CYTOKINES AND BEHAVIOR IN EXPERIMENTAL MODEL OF ANXIOUS DEPRESSION IN C57BL/6 MALE MICE

A. V. Tallerova, L. P. Kovalenko, A. D. Durnev, and S. B. Seredenin

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

Effects of the antiasthenic drug ladasten [N-(2-adamantyl)-N-(para-bromophenyl)amine] on the profile of cytokines, behavior, and indexes of immunity organs was studied on zoosocial stress model in depressed C57BL/6 male mice. The anxious depression state in male mice was formed by repeated agonistic interactions according to the sensory contact model. Ladasten (30 mg/kg, i.p.) and reference drug imipramine (10 mg/kg, i.p.) were administered either once after 3-day stressor interaction or for 5 days after 10-day interaction. The concentration of cytokines in blood serum was determined by flow cytometry method. The behavioral changes were studied using an actometer and the elevated plus-maze test. The parameters were studied 24 h after last drug injection. Different stages of depression were manifested by behavioral impairments, increased concentration of pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-17, and IL-4, and decreased indexes of immunity organs. Ladasten induced (more significantly than imipramine) a decrease in the level of pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-17 and IL-4, removed behavioral changes, and restored indexes of immunity organs. Thus, the antiasthenic drug ladasten limits development of the anxious depressive state and suppresses the level of proinflammatory cytokines IL-6, IL-17 and IL-4. These findings suggest that ladasten is a possible candidate drug for adjuvant therapy of depressive disorders.

Key words: Ladasten, anxious depression state, behavior, pro-inflammatory cytokines