

ИЗУЧЕНИЕ ПСИХОИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ФЕНОТРОПИЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТИРЕОТОКСИКОЗЕ

И. Н. Тюренков¹, М. А. Самотруева², С. В. Прилучный^{1,2}

На модели экспериментального тиреотоксикоза показана способность фенотропила при двухнедельном внутрибрюшинном введении в дозе 25 мг/кг уменьшать нарушения гуморального и клеточного звеньев иммунитета, а также улучшать психоэмоциональное состояние животных. Это свидетельствует о наличии у фенотропила выраженных психоиммунокорригирующих свойств.

Ключевые слова: фенотропил; экспериментальный тиреотоксикоз; психоиммунокорригирующая активность; психоиммуномодуляция

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все более широкое распространение находит концепция о взаимообусловленности патологических процессов в центральной нервной, иммунной и эндокринной системах, относящихся к единому организму. Молекулярную основу взаимодействия указанных систем составляют многочисленные факторы, для восприятия которых на поверхности эндокриноцитов, нейронов и иммунокомпетентных клеток имеются специализированные рецепторы [6, 13]. В работе D. C. Javitt показано, что медиаторы иммунной и эндокринной систем (иммуноглобулины, цитокины, гормоны и др.) определяют особенности психоэмоционального статуса и изменение их соотношения может вызывать поведенческие сдвиги. В то же время нарушения функциональной активности структур ЦНС сопровождается дисбалансом иммунной и эндокринной систем [11]. Заболевания щитовидной железы (ЩЖ) и дисбаланс гормонов ЩЖ сопровождаются развитием широкого спектра нарушений психоэмоционального состояния и иммунитета [3, 4, 9, 10], что подчеркивает необходимость поиска средств фармакологической коррекции, способных эффективно устранять вторичные нервно-психические и иммунные нарушения. Интерес представляют структурные аналоги нейрoактивных аминокислот, в частности аналог ГАМК — фенотропил, обладающий широким спектром фармакологической активности [1].

Целью настоящей работы явилось изучение психоиммунокорригирующей активности фенотропила в условиях экспериментального тиреотоксикоза (ЭТТ).

¹ Кафедра фармакологии и биофармации ФУВ (зав. — чл.-корр. РАМН И. Н. Тюренков), Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

² Кафедра ботаники, фармакогнозии и фармацевтической технологии (зав. — Б. В. Фельдман), Астраханская государственная медицинская академия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполняли на 72 крысах-самках линии Вистар 5 – 6 мес в стадии диэструса. Работу с животными проводили в соответствии с Приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. “Об утверждении правил лабораторной практики” (GLP). Выполнено три серии экспериментов на трех группах животных ($n = 8$): в 1-ой — изучали психоэмоциональное состояние животных в разных поведенческих тестах; во 2-ой — оценивали активность клеточного звена иммунитета, в 3-ей — исследовали гуморальное звено иммунитета. Во всех контрольных группах животным внутрибрюшинно (в/б) вводили изотонический раствор натрия хлорида в эквиваленте, вторые группы животных в течение 21 дня внутрижелудочно получали трийодтиронин (50 мкг/кг) т.е. формировались явления ЭТТ; и третья группа животных получали фенотропил (в дозе 25 мг/кг, в/б, в течение 14 дней), т.е. через 7 дней от начала введения трийодтиронина.

Изучение влияния фенотропила на гуморальное звено иммуногенеза осуществлялось на основе реакции прямой гемагглютинации (РПГА) [7]. В качестве антигена применяли эритроциты барана (ЭБ) в дозе $2 \cdot 10^8$, которые вводили однократно, в/б на второй день после завершения введения трийодтиронина. Забор крови проводили на 7-е сутки после иммунизации. Титр антител был выражен в среднегеометрических показателях. Влияние фенотропила на клеточное звено иммунного ответа оценивали по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) [7]. Иммунизация животных была проведена однократным подкожным введением в подлопаточную область $5 \cdot 10^8$ ЭБ; на 5-е сутки вводили разрешающую дозу 10^8 ЭБ в “опытную” лапу и 0,9 % раствора натрия хлорида — в “контрольную” лапу; через 24 ч учитывали интенсивность РГЗТ по индексу реакции (ИР).

Психоэмоциональное состояние оценивали в тестах “открытое поле”, “приподнятый крестообразный лабиринт” и “отчаяния” по Порсолту [7]. За 90 мин до тестирования животных помещали в тихую, слабо ос-

вещенную комнату, не проводя в этот период активные манипуляции: перегруппировку животных, кормление, взятие в руки и другие. Установка “открытое поле” представляет собой квадратную площадку размерами 80 × 80 см, ограниченную бортами высотой 60 см. Площадка разделена разметкой на 25 равных квадратов, на пересечении которых 16 отверстий $d = 3$ см, а также выделена центральная зона поля, освещенность площадки — 90 Лк. При тестировании животное помещали в центр поля. Регистрировали следующие параметры: горизонтальная двигательная активность (пересеченные сегменты), вертикальная двигательная активность (количество стоек), обследованные норки и число актов кратковременного груминга. Время наблюдения: 3 мин. Установка “приподнятый крестообразный лабиринт” — квадратная площадка (14 × 14 см) и четыре расположенных перпендикулярно рукава, размерами 50 × 14 см каждый, два из которых (закрытые рукава) ограничены по бокам темными бортами высотой 40 см, а два других являются открытыми. Лабиринт приподнят над полом на 70 см. Тестируемое животное помещали в центральную квадратную площадку между рукавами головой к открытому рукаву. Регистрировали следующие параметры: время нахождения в открытых рукавах, количество переходов из одного рукава в другой, количество исследовательских “свешиваний” с них, число стоек и актов кратковременного груминга. Время наблюдения: 3 мин. Установка Порсолт (тест “отчаяния”) — цилиндр диаметром 18 см и высотой 40 см, заполненный на 1/3 водой (27 °С). Животное помещали в цилиндр и регистрировали следующие параметры: продолжительность активного и пассивного плавания, иммобилизации, а также латентные периоды (ЛП) до 1-го движения и до 1-го эпизода иммобилизации. Время наблюдения: 5 мин. Тестирование животных проводили через сутки после последнего введения фенотропила в следующей последовательности: “открытое поле”, “приподнятый крестообразный лабиринт”, Порсолт. Интервал между регистрацией показателей поведения в разных тестах составлял сутки. Тестирование животных проводили с 15.00 – 18.00.

Во всех сериях подтверждали формирование состояния тиреотоксикоза на основании определения гормонов с помощью иммуноферментного анализа с

использованием систем “Rat Thyroid Stimulating Hormone, ELISA Kit” и “Т3 свободный — ИФА-Бест”.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакетов программ Microsoft Office Excel 2007, BIOSTAT 2008 Professional 5.8.4.3. с определением критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что на фоне введения трийодтиронина в дозе 50 мкг/кг в течение 21 дня были обнаружены клинические проявления гипертиреоза: снижение потребления корма, потеря массы тела, мышечная гипотония, тремор, агрессия, неравномерно распределенная алопеция и матовый волосяной покров. У животных с экспериментальным тиреотоксикозом уровень гормонов составлял: ТТГ — $0,09 \pm 0,006$ мкМЕ/л, Т3 — $13,4 \pm 0,31$ пмоль/л (в контроле — ТТГ — $0,12 \pm 0,008$ мкМЕ/л, Т3 — $4,6 \pm 0,52$ пмоль/л) ($p < 0,05$). Имеющиеся в литературе сведения об особенностях изменения гуморального и клеточного иммунитета на фоне гипертиреоза весьма противоречивы, описаны эффекты усиления и подавления иммунных реакций [2]. В нашем исследовании тиреотоксикоз сопровождался активацией специфического антиэритроцитарного иммунного ответа, что проявлялось в достоверном увеличении титра антител в РПГА (более чем на 30 %) и ИР ГЗТ (на 15 %), по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$). У животных опытной группы, получавших фенотропил, наблюдалось восстановление всех параметров иммунореактивности практически до фоновых значений в контрольной группе животных ($p < 0,05$) (табл. 1), что подтверждает ранее полученные нами данные, свидетельствующие о наличии у фенотропила иммуномодулирующих свойств [8].

У животных на фоне ЭТТ сформировались и нарушения психоэмоционального состояния (табл. 2). Так, в тесте “открытое поле” наблюдалось снижение количества исследовательских “заглядываний в норки” и числа стоек практически на 20 % ($p < 0,05$), по сравнению с таковыми в контрольной группе животных. Формирование повышенной ситуативной тревожности подтверждалось увеличением числа актов кратковременного груминга более чем на 30 % ($p < 0,05$)

Таблица 1. Влияние фенотропила на формирование реакции прямой гемагглютинации (РПГА) и реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у крыс при экспериментальном тиреотоксикозе

Группа животных ($n = 8$)	Титр антител в РПГА, $M \pm m$, lg	Индекс ГЗТ, $M \pm m$, %
Контроль	$2,4 \pm 0,06$	$1,7 \pm 0,05$
Модель тиреотоксикоза (трийодтиронин, 50 мкг/кг, 21 день)	$3,73 \pm 0,03^*$	$2,1 \pm 0,09^*$
Фенотропил (25 мг/кг, 14 дней) + модель тиреотоксикоза (трийодтиронин, 50 мкг/кг, 21 день)	$2,49 \pm 0,03^\#$	$1,8 \pm 0,07^\#$

Примечание. * — $p < 0,05$ — степень достоверности относительно контроля; $^\#$ — $p < 0,05$ — степень достоверности относительно животных с экспериментальным тиреотоксикозом (t -критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони).

(табл. 2). Наличие тревожной симптоматики у животных с ЭТТ подтвердилось и в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт”: наблюдалось достоверное снижение количества переходов между рукавами, стоек, “свешиваний” более, чем на 30 % ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными контрольной группы. Кроме того, отмечалось повышение общего уровня тревожности в виде уменьшения времени нахождения в открытых рукавах и увеличение числа актов кратковременного груминга более, чем на 60 % и вдвое — количества свешиваний, ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Для подтверждения наличия депрессивноподобных изменений в поведении животных с тиреотоксикозом было проведено изучение их активности в тесте Порсолт. Отмечено значительное уменьшение времени активного плавания ($p < 0,05$) и ЛП до первой иммобилизации ($p < 0,05$), а также увеличение суммарного времени иммобилизации ($p < 0,05$) (табл. 2). Полученные нами результаты подтверждают тот факт, что депрессия и тревожные расстройства являются одними из самых распространенных клинических проявлений данной патологии [12].

На фоне введения фенотропила отмечено улучшение психоэмоционального состояния животных с тиреотоксикозом. В тесте “открытое поле” у животных опытной группы регистрировалась более высокая поисково-исследовательская активность, а именно увеличивалось более чем на 20 % количество стоек и обследованных “норок” ($p < 0,05$). Наряду с этим, у осо-

бей с патологией изучаемый препарат способствовал увеличению показателей двигательной активности, по сравнению с интактными животными на 22 % ($p < 0,05$), табл. 2. В тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” наблюдалось увеличение времени пребывания в светлом отсеке лабиринта более, чем на 60 %, по сравнению с группой животных с ЭТТ ($p < 0,05$), так же отмечалось увеличение числа переходов между рукавами и количества стоек более, чем на 20 % ($p < 0,05$) (табл. 2). Снижение уровня тревожности у животных с указанной патологией на фоне введения фенотропила подтверждалось уменьшением числа актов кратковременного груминга (табл. 2). В тесте Порсолт у животных на фоне введения фенотропила наблюдалось увеличение времени активного плавания ($p < 0,05$) и ЛП до первого “эпизода зависания” практически на 20 % ($p < 0,05$), а также снижение продолжительности иммобилизации на 30 % ($p < 0,05$) в сравнении с показателями у особей с тиреотоксикозом (табл. 2). Результаты изучения поведения животных в тестах “приподнятый крестообразный лабиринт”, “открытое поле” и Порсолт свидетельствуют о том, что фенотропил в условиях экспериментального тиреотоксикоза уменьшал тревожно-депрессивную симптоматику.

Таким образом, изучения влияния фенотропила на психоэмоциональное состояние и иммунореактивность лабораторных животных с экспериментальным тиреотоксикозом показало наличие у препарата психоиммуномодулирующей активности.

Таблица 2. Влияние фенотропила на поведение крыс при экспериментальном тиреотоксикозе

Показатель	Группы животных ($n = 8$)		
	Контроль	Модель тиреотоксикоза (трийодтиронин, 50 мкг/кг, 21 день)	Фенотропил (25 мг/кг, 14 дней) + модель тиреотоксикоза (трийодтиронин, 50 мкг/кг, 21 день)
<i>“Открытое поле”</i>			
Горизонтальная двигательная активность	35,6 ± 2,3	29,5 ± 1,3	45,3 ± 3,1* [#]
Вертикальная двигательная активность	12,9 ± 1,1	9,6 ± 0,8*	16,6 ± 2,2 [#]
Исследование “норок”	4,8 ± 0,3	3,7 ± 0,2*	5,1 ± 0,4 [#]
Кратковременный груминг	2,4 ± 0,2	3,3 ± 0,3*	2,8 ± 0,2
<i>“Приподнятый крестообразный лабиринт”</i>			
Время в открытом рукаве, с	29,1 ± 2,3	13,2 ± 2,1*	29,6 ± 2,6 [#]
Переходы между рукавами	2,6 ± 0,2	1,8 ± 0,2*	2,8 ± 0,2 [#]
Стойки	11,2 ± 0,7	6,9 ± 0,5*	11,5 ± 0,9 [#]
“Свешивания” с открытых рукавов	3,3 ± 0,3	2,3 ± 0,1*	4,6 ± 0,6 [#]
Кратковременный груминг	1,9 ± 0,3	3,0 ± 0,2*	2,1 ± 0,3
<i>Порсолт</i>			
ЛП до 1-го движения, с	10,3 ± 0,4	13,1 ± 0,6*	10,0 ± 0,5 [#]
ЛП до 1-ой иммобильности, с	81,3 ± 6,9	62,3 ± 3,2*	73,5 ± 3,1 [#]
Иммобильность, с	71,3 ± 2,1	82,4 ± 3,1*	58,2 ± 4,7 [#]
Пассивное плавание, с	65,3 ± 3,0	80,2 ± 4,2*	88,5 ± 5,8
Активное плавание, с	165,4 ± 10,4	128,7 ± 8,7*	153,3 ± 5,6 [#]

Примечание. * — $p < 0,05$ — степень достоверности относительно контроля; [#] — $p < 0,05$ — степень достоверности относительно животных с экспериментальным тиреотоксикозом (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони).

ВЫВОДЫ

1. У животных с экспериментальным тиреотоксикозом происходит активация антиэритроцитарного иммунного ответа, что проявляется в увеличении титра антител в реакции прямой гемагглютинации и индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа.

2. Совокупность данных, отражающих изменение психоэмоционального состояния животных с тиреотоксикозом, по показателям изучения поведения в тестах “открытое поле”, “приподнятый крестообразный лабиринт” и Порсолт, свидетельствует о наличии у них выраженной тревожно-депрессивной симптоматики.

3. Фенотропил у животных с экспериментальным тиреотоксикозом при двухнедельном внутривенном введении в дозе 25 мг/кг проявляет психоиммунотулирующее действие, восстанавливая гуморальную и клеточную иммунореактивность и устраняя тревожно-депрессивные изменения в поведении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю. Б. Белоусов, *Качественная клиническая практика*, № 3, 1 – 12 (2005).

2. Т. Н. Бондарь, *Annals of Mechnikov Institute*, № 4, 9 – 13 (2008).
3. И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, Е. А. Трошина и др., *Результаты мониторинга йододефицитных заболеваний в Российской Федерации 2000 – 2005 гг.*, Москва (2005).
4. И. И. Дедов, В. А. Петеркова, *Руководство по детской эндокринологии*, Универсум Паблишинг, Москва (2006).
5. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(2), 53 – 56 (2003).
6. М. А. Пальцев, И. М. Кветной, *Руководство по нейроиммуноэндокринологии 2-е изд.*, Медицина, Москва (2008).
7. *Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).
8. М. А. Самотруева, И. Н. Тюренков, Д. Л. Теплый и др., *Бюл. экспер. биол.*, **151**(1), 59 – 62 (2011).
9. J. P. Bourguignon, A. S. Parent, *Curr. Opin. Pediatr.*, **22**(4), 470 – 477 (2010).
10. F. Brandt, A. Green, L. Hegedüs, T. Brix, *Eur. J. Endocrinol.*, **165**(4), 491 – 497 (2011).
11. D. C. Javitt, *Isr. J. Psychiatry Relat. Sci.*, **47**(1), 4 – 16 (2010).
12. P. Lass, J. Slawek, M. Derejko, D. Rubello, *Minerva Endocrinol.*, **33**(2), 75 – 84 (2008).
13. L. Souza-Moreira, J. Campos-Salinas M. Caro, E. Gonzalez-Rey, *Neuroendocrinology*, **94**(2), 89 – 100 (2011).

Поступила 16.11.12

PSYCHOMODULATING ACTIVITY OF PHENOTROPIL IN EXPERIMENTAL HYPERTHYROIDISM

I. N. Tyurenkov¹, M. A. Samotruева², and S. V. Priluchnyi^{1,2}

¹ Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov la, Volgograd, 400131, Russia

² Astrakhan State Medical Academy, Bakinskaya ul. 121, Astrakhan, 414000, Russia

Psychoimmunomodulating action of phenotropil has been shown on the model of experimental hyperthyroidism. It has been found that the drug (14-days i.p. injection in a dose of 25 mg/kg) is capable of restoring the cellular and humoral immunoreactivity and improve psychoemotional state of animals by eliminating disturbances in the behavior reactions that appear as a result of the induced hyperthyroidism.

Keywords: phenotropil; experimental hyperthyroidism; psychoimmunomodulating activity