

ВЛИЯНИЕ АНКСИОЛИТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА НЕКОТОРЫЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У СТРЕССИРОВАННЫХ КРЫС

Э. Б. Арушанян, М. В. Батурина, Э. В. Бейер, Е. М. Кузьмина¹

Повторный плавательный стресс оказывает угнетающее влияние на большинство иммунологических показателей у крыс. Диазепам и мелатонин (по 0,1 мг/кг), существенно не влияя на состояние иммунитета у интактных животных, ослабляют сдвиги, обусловленные стрессом. При этом мелатонин заметно превосходит диазепам по иммуноотропной активности.

Ключевые слова: диазепам, мелатонин, иммунитет

ВВЕДЕНИЕ

Анксиолитические вещества обладают антистрессорными свойствами. Между тем, по многочисленным данным различные формы острого и хронического стресса сопровождаются разнообразными сдвигами в состоянии иммунной системы [6, 8]. Поэтому естественно искать определенную связь между специфическими и иммуноотропными свойствами анксиолитиков. Однако исследования, проводившиеся в этом направлении, немногочисленны и противоречивы. В связи с этим представлялось интересным оценить влияние эталонного анксиолитика диазепама и эпифизарного гормона мелатонина, также обладающего противотревожными и антистрессорными свойствами [1, 2], на некоторые иммунологические показатели у стрессированных крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 48 белых нелинейных крысах-самцах массой 150 г. Определяли следующие показатели, характеризующие иммунологический статус животных: общее количество лейкоцитов, содержание лимфоцитов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов, CD4⁺(Т-хелперы)- и CD8⁺(Т-супрессоры)-типов лимфоцитов, а также их соотношение (CD4⁺/CD8⁺), розеткообразующих клеток (Е-РОК и E_A-РОК), нулевых клеток и циркулирующих иммунных комплексов [4].

Животные были разделены на 8 экспериментальных групп (по 6 особей). Иммунологические показатели определяли у нормальных, стрессированных животных, а также после введения тем и другим фармакологических веществ или физиологического раствора (в качестве контроля). Плавательный стресс создавали, помещая крыс в резервуар с водой на 15 мин в течение 5 дней. Спустя 18 ч после прекращения стрессирования под эфирным наркозом из хвостовой вены брали кровь в количестве 1,5 мл. Диазепам и мелатонин использовали в равных дозах — 0,1 мг/кг внутривенно.

шинно. Вещества, как и физиологический раствор, вводили за 30 мин до плавательного стресса.

Крыс содержали в условиях вивария при естественном световом режиме и свободном доступе к пище и воде. Полученные результаты подвергнуты вариационной статистической обработке с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Плавательный стресс вызывал выраженные изменения количественного состава иммунокомпетентных клеток. Статистически значимо снижалось число сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов. Одновременно возрастало количество лимфоцитов типа CD8⁺ (Т-супрессоры; $p < 0,05$). Вследствие этого при неизменном количестве CD4⁺-клеток (Т-хелперы) уменьшалось соотношение CD4⁺/CD8⁺ ($p < 0,05$). Падало также число розеткообразующих клеток (Е-РОК), таблица. Эти сдвиги свидетельствовали об угнетающем влиянии стресса на иммунитет в данных экспериментальных условиях. Специфичность полученных фактов подтверждают результаты, обнаруженные при введении физиологического раствора, что, несомненно, является стрессирующим воздействием для животных. В этом случае также отмечено нарастание CD8⁺-лимфоцитов и соответственно снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺, уменьшение количества моноцитов, однако эти сдвиги не выходили за рамки недостоверной тенденции. Вместе с тем процедура инъекции, являясь менее сильным стрессором по сравнению с плаванием, не сопровождалась какими-либо заметными изменениями общего числа лейкоцитов и Е-РОК.

Диазепам у нормальных крыс повышал количество CD4⁺-лимфоцитов и существенно не влиял на другие клетки, исключая лишь недостоверное возрастание Е-РОК и снижение числа моноцитов (см. таблицу). Подобное, но гораздо более выраженное действие оказывал мелатонин. Гормон уменьшал и число CD8⁺-клеток. В результате соотношение CD4⁺/CD8⁺ увеличивалось в 2 раза ($p < 0,01$).

Стресс-протективное действие диазепама оказалось ограниченным и заключалось лишь в препятствии стресс-индуцированному возрастанию CD8⁺-лимфо-

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф Э. Б. Арушанян) Ставропольской медицинской академии, Ставрополь, 355024, ул. Мира, 310.

Влияние диазепама и мелатонина на иммунологические показатели у нормальных и стрессированных крыс

Показатель	Интактные	Физиологический раствор	Стресс	Стресс + физиологический раствор	Диазепам	Стресс + диазепам	Мелатонин	Стресс + мелатонин
Лейкоциты, 10^9 /л	8,9 ± 0,7	12,3 ± 1,1	10,2 ± 0,9	10,6 ± 1,0	9,3 ± 1,2	11,3 ± 1,4	11,5 ± 1,1	14,9 ± 1,5
Нейтрофилы (сегментоядерные), %	36,6 ± 3,6	28,6 ± 3,2	21,3 ± 2,1*	23,0 ± 2,4	30,0 ± 2,1	22,5 ± 1,8	38,2 ± 2,4	28,0 ± 1,8 ⁺
Лимфоциты, %	60,6 ± 4,8	67,6 ± 5,4	76,3 ± 7,1	67,3 ± 6,1	66,0 ± 5,2	78,9 ± 7,2	56,0 ± 4,8	67,8 ± 6,0
Моноциты, %	2,4 ± 0,3	2,0 ± 0,2	1,3 ± 0,15	0,8 ± 0,07	1,2 ± 0,1	3,0 ± 0,4	3,0 ± 0,3	2,0 ± 0,1 ⁺
Е _A -РОК, %	13,6 ± 2,4	16,6 ± 2,9	8,0 ± 0,8	5,8 ± 0,6	18,4 ± 1,9	6,0 ± 0,5	10,6 ± 0,9	15,0 ± 1,4
Е-РОК, %	40,8 ± 3,9	40,0 ± 4,1	31,0 ± 2,9	22,3 ± 2,1	56,8 ± 4,8	32,5 ± 3,0	34,6 ± 3,1	45,6 ± 4,0
CD4 ⁺ , %	33,2 ± 2,9	32,8 ± 3,0	32,0 ± 2,7	33,8 ± 3,1	47,8 ± 3,8	29,3 ± 2,4	44,6 ± 3,6	29,2 ± 2,4
CD8 ⁺ , %	7,2 ± 0,3	9,6 ± 0,8	15,8 ± 0,9*	9,0 ± 0,7	9,8 ± 0,75	5,3 ± 0,4 ⁺	4,0 ± 0,3*	6,2 ± 0,4 ⁺⁺
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	8,0 ± 0,7	5,9 ± 0,4	2,2 ± 0,15**	10,4 ± 0,9	9,6 ± 0,8	7,6 ± 0,5 ⁺⁺	16,0 ± 1,2**	9,4 ± 0,6 ⁺
Нулевые клетки, %	54,6 ± 8,9	53,6 ± 6,5	60,8 ± 7,2	75,5 ± 7,9	40,4 ± 4,7	65,5 ± 7,1	62,0 ± 6,9	43,6 ± 4,8
ЦИК	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,03	1,9 ± 0,04	3,2 ± 0,08	1,7 ± 0,05	2,7 ± 0,06	2,6 ± 0,05	1,2 ± 0,02

Примечание: ЦИК — циркулирующие иммунные клетки. Отличия статистически значимы при сравнении с интактными крысами (* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$). Сдвиги достоверны при сопоставлении с результатами стрессированных животных (+ — $p < 0,05$; ++ — $p < 0,01$).

цитов и падению количества моноцитов. Эффект мелатонина был более выраженным. Гормон нивелировал практически все изменения в количественном составе иммунных клеток, вызванные стрессом: снижение числа сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов, Е-РОК, а также возрастание CD8⁺-лимфоцитов.

Таким образом, согласно полученным результатам, диазепам и мелатонин ограничивают иммунодепрессивное действие стресса, причем эпифизарный гормон заметно превосходит по своим свойствам бензодиазепиновый анксиолитик.

Обнаруженное нами угнетающее влияние стресса на иммунологические параметры у крыс в целом согласуются с данными других исследователей. Как свидетельствуют многочисленные исследования на людях, живущих или оказавшихся в хронической стрессорной ситуации, этому сопутствует снижение количества фагоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, митогенной активности лимфоидных клеток, функции естественных киллеров, продукции интерферонов и интерлейкинов 1 и 2 [9, 12].

Сходные результаты представлены в опытах на животных. В частности, повторный плавательный стресс у крыс нарушает соотношение различных популяций Т-лимфоцитов, причем наиболее чутко реагируют клетки тимуса. Такое стрессирование угнетает формирование антителообразующих элементов в ткани селезенки и лимфатических узлах в разные фазы иммунного ответа, и депрессия сохраняется длительное время после прекращения повторного плавания [5, 13].

Несмотря на разноречивость данных о психонейроиммунологической активности психотропных средств, есть тем не менее факты, согласующиеся с полученными нами данными. Так, непродолжительное (в отличие

от многомесячного) применение бензодиазепинов усиливает включение меченого тимидина в антиген-стимулируемые лимфоциты у мышей. Анксиолитики защищают животных от иммунной супрессии, обусловленной длительным стрессированием, очевидно, через возбуждение специфических бензодиазепиновых рецепторов периферического типа, которые описаны и на фагоцитирующих клетках. Феназепам у крыс усиливал антителообразование к тимусзависимому антигену, устраняя проявления постинтоксикационного иммунодефицита [3, 14].

Активирующее влияние мелатонина на функцию иммунной системы может проявляться в стимуляции пролиферативных процессов в селезенке и тимусе, а также в усиленной выработке цитокинов лимфоцитами. Это подтверждают эксперименты, выполненные *in vitro* и *in vivo* [7, 11]. Напротив, после эпифизэктомии показано ослабление blastогенного ответа тимоцитов и спленоцитов у грызунов [10].

Вместе с тем результаты проведенного исследования при сравнении иммунотропных свойств анксиолитика диазепама и мелатонина позволяют говорить о заметном преимуществе последнего. Обладая более слабым психодепримирующим действием, лишенный токсичности, эпифизарный гормон одновременно с ослаблением стрессорного ответа обеспечивает более надежный иммуномодулирующий эффект.

ВЫВОДЫ

1. Повторный плавательный стресс вызывает отчетливые изменения в количественном составе иммунокомпетентных клеток, свидетельствующие о снижении активности иммунной системы.

2. Анксиолитик диазепам и гормон эпифиза мелатонин ослабляют иммунодепрессивное влияние стресса, причем гормон обнаруживает более оптимальные иммунотропные свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, Л. Г. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(6), 71 – 77 (1997).
2. Э. В. Бейер, Э. Б. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(5), 40 – 43 (1977).
3. П. Ф. Забродский, *Фармакол. и токсикол.*, **54**(2), 54 – 61 (1991).
4. *Иммунологические методы*, Медицина, Москва, (1987).
5. Е. А. Кирилина, Л. А. Захарова, А. А. Михайлова, *Иммунология*, **3**, 68 – 70 (1990).
6. В. А. Левандо, Р. С. Суздальский, Г. Н. Кассиль и др., *Усп. физиол. наук.*, **3**, 79 – 98 (1990).
7. D. Atre and E. J. Blumenthal, *Mech. Ageing DeveL*, **103**(3), 255 – 268 (1998).
8. R. Dantzer and K. W. Kelly, *Life Sci.*, **44**, 1995 – 2008 (1989).
9. D. L. Evans, J. Leserman, C. A. Pedersen, et al., *Psychopharmacol. Bull.*, **23**(3), 319 – 324 (1989).
10. C. Haldar, R. Singh, *J. Exp. Zool.*, **289**(2), 90 – 98 (2001).
11. M. Rafii – El – Idrissi, J. R. Calvo, A. Harmauch, et al., *J. Neuroimmunol.*, **86**(2), 190 – 197 (1998).
12. A. A. Stone and D. H. Boubjerg, *Adv. Neuroimmunol.*, **4**(1), 49 – 55 (1994).
13. H. Teshima, H. Sogawa, H. Kihara and T. Nakagawa, *Life Sci.*, **49**, 1571 – 1581 (1991).
14. F. Zavala, *Pharmacol. Ther.*, **75**(3), 199 – 216 (1997).

Поступила 22.08.02

THE EFFECT OF ANXIOLYTIC DRUGS ON SOME IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS UNDER STRESS CONDITIONS IN RATS

E. B. Arushanyan, M. V. Baturina, E. V. Beier, and E. M. Kuz'mina

Pharmacology Department, State Medical Academy, Ministry of Public Health of the Russian Federation, ul. Mira 310, Stavropol, 355024 Russia

Repeated stress under forced swim test conditions suppresses most of the immunological characteristics in rats. Diazepam and melatonin (both in a dose of 0.1 mg/kg), while not changing significantly the immunological state of intact animals, decrease the stress-induced shifts. The immunotropic effect of melatonin is much more pronounced than that of diazepam.