

Тезисы докладов

Перспективы лечения рассеянного склероза пробиотиками

Абдурасулова И.Н., Тарасова Е.А., Ермоленко Е.И., Кудрявцев И.В., Серебрякова М.К., Мацулевич А.В., Клименко В.М.

ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Введение. Рассеянный склероз (РС) является наиболее частой причиной инвалидизации людей трудоспособного возраста среди неврологических заболеваний. Аутоагрессия сенсibilизированных к антигенам миелина иммунных клеток приводит к демиелинизации нервных волокон, а также гибели нейронов. До настоящего времени не существует эффективных методов лечения этой патологии. Моделирование сходных процессов у животных при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) во многом способствовало пониманию патогенеза рассеянного склероза и разработке патогенетической терапии. Одним из используемых иммуномодулирующих лекарственных средств является копаксон (глатирамер ацетат). Существенными недостатками этого препарата является высокая стоимость, недостаточная эффективность, инъекционный способ введения, побочные эффекты. В связи с этим разработка неинвазивных, легко применяемых, недорогих аналогов весьма перспективно.

В последние годы опубликован ряд работ об использовании пробиотических штаммов лактобактерий для снижения тяжести ЭАЭ у животных. Показано также, что изменение состава кишечной микробиоты может способствовать развитию ЭАЭ. Кроме того, у значительной части пациентов с РС имеются проблемы со стороны желудочно-кишечного тракта, которые можно корректировать пробиотиками. Таким образом, пробиотики могут использоваться в комплексной терапии РС.

Нами показано, что *Enterococcus faecium* (штамм L3) стимулирует продукцию противовоспалительного цитокина — интерлейкина-10 (ИЛ-10), который подавляет продукцию провоспалительных цитокинов и оказывает протективное действие. У мышей с повышенной продукцией ИЛ-10 не развивается ЭАЭ, и с увеличением его продукции связано спонтанное выздоровление у животных.

В связи с этим **цель работы** — исследование способности курсового введения пробиотического штамма L3 *Enterococcus faecium* или его комбинации с копаксоном предотвращать развитие или снижать тяжесть течения ЭАЭ у крыс.

Материалы и методы. ЭАЭ у самок крыс Вистар индуцировали однократной подкожной инъекцией гомологичного гомогената спинного мозга, эмульгированного в полном адьюванте Фрейнда. Крысы были разделены на 4 группы случайным образом. Крысам первой группы после индукции ЭАЭ раз в сутки внутривенно вводили *Enterococcus faecium* в дозе 8,0 lg CFU/на крысу в течение 16 дней (n = 35). Крысам второй группы в те же сроки подкожно вводили копаксон в дозе 4 мг/кг (n = 35). Крысы третьей группы получали оба препарата (n = 35). Крысам четвертой группы вводили апирогенный физиологический раствор (ФР).

Эффективность проводимого лечения оценивали по следующим показателям: заболеваемость в группе, длительность латентного периода, продолжительность заболеваемости и ее тяжесть. Для этого рассчитывали клинический индекс (КИ) в соответствии с разработанной ранее шкалой (1). При отсутствии симптомов заболевания КИ принимали за 0, в случае летального исхода — 6. КИ максимальный соответствовал пику заболевания, КИ кумулятивный — сумма КИ за весь период болезни животного.

До индукции ЭАЭ, а также на 7, 14 и 28 дни у животных под легким эфирным наркозом из хвостовой вены брали образцы крови для выявления фенотипа клеток методом проточной цитофлуориметрии. Использовали набор антител — CD3, CD4, CD8, CD161, CD25, FoxP3, CD45RA (Biolegend). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США), оснащенном двумя диодными лазерами 488 и 638 нм.

Математическую обработку цитофлуориметрических данных проводили при помощи программ Navios Software v.1.2 и Kaluza™ v.1.3 (Beckman Coulter, США).

Результаты. У 97% крыс контрольной группы, получавших ФР после индукции ЭАЭ развивался ЭАЭ. После лечения копаксоном или пробиотиком — у 77,4% и 77,8% соответственно, т.е. оба препарата снижали заболеваемость на 20%. Несмотря на то, что и копаксон, и пробиотик увеличивали долю легко болеющих животных до 22%, по сравнению с 3% в контрольной группе, число летальных исходов уменьшалось только в группе, получавшей копаксон (5,8% против 13,9% в контрольной группе и группе, получавшей пробиотик). Динамика заболеваемости, длительность латентного периода и продолжительность заболевания были сопоставимы в обеих группах, получавших лечение, и достоверно отличались от соответствующих показателей у животных контрольной группы.

Мы предполагали, что при совместном использовании копаксона и пробиотика будет наблюдаться наиболее выраженное протективное действие, однако вопреки ожиданию, в данной группе практически все показатели были на уровне контрольной группы.

При исследовании клеток крови оказалось, что копаксон и пробиотик стимулируют противоположные типы Т-клеток: копаксон — в большей степени Т-хелперы с фенотипом CD3+CD4+ и регуляторные Т-клетки CD4+CD25+FoxP3+ фенотипа, тогда как пробиотик — цитотоксические Т-клетки с фенотипом CD3+CD8+ и клетки с фенотипом CD4+CD25+FoxP3-, среди которых может быть другой тип регуляторных Т-клеток. При комбинированной схеме введения количество клеток разных популяций было сопоставимо с соответствующими показателями контрольной группы, что согласуется со сходной тяжестью течения ЭАЭ в этих двух группах.

Возможно, что описанные в литературе штаммовые различия эффективности и отсутствие эффекта при использовании смеси из разных пробиотических культур связаны с разнонаправленным иммуномодулирующим действием составляющих компонентов.

Выявленные особенности временной динамики активации/ингибирования различных популяций иммунных

клеток при раздельном введении копаксона или пробиотика указывают на необходимость более длительного курса введения пробиотика при монотерапии и целесообразность разработки новой комбинированной схемы с использованием пробиотика и копаксона в разные фазы заболевания.

Заключение. Проведенное исследование выявило существенный протективный потенциал у штамма ЛЗ *Enterococcus faecium*, сопоставимый с копаксоном, что показывает перспективность его использования для лечения РС, однако, данный пробиотик не следует применять одновременно с копаксоном. На основе полученных данных можно заключить, что при подборе препаратов для комплексной терапии РС необходимо учитывать тип иммуномодуляции и для достижения максимального эффекта использовать вещества с однонаправленным действием.

Список литературы

1. Абдурасулова И.Н., Сердюк С.Е., Гмиро В.Е. Сравнительное исследование профилактического и лечебного действия ИЭМ-1966 и мемантина у крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелитом // Бюл. Эксп. Биол. Мед., 2007. — Т. 144, №8. — С. 184—187.
2. Maassen C.D.V., Claassen E. Strain-dependent effects of probiotic lactobacilli on EAE autoimmunity // Vaccine. — 2008. — Vol. 26. — P. 2056—2057.
3. Lavasani S., Dzhabazov B., Nouri M. et al. A Novel Probiotic Mixture Exerts a Therapeutic Effect on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Mediated by IL-10 Producing Regulatory T Cells // PloS One. — 2010. — Vol. 5, №2. — e9009.
4. Kobayashi T., Kato I., Nanno M. et al. Oral administration of probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium breve*, does not exacerbate neurological symptoms in experimental autoimmune encephalomyelitis // Immunopharmacol. Immunotoxicol. — 2010. — Vol. 32, №1. — P. 116—124.
5. Kwon H.-K., Kim G.-C., Kim Y. et al. Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by probiotic mixture is mediated by a shift in T helper cell immune response // Clin. Immunol. — 2013. — Vol. 146. — P. 217—227.

Действие мелатонина

на ноцицептивную чувствительность крыс при изменении иммунного статуса под влиянием липополисахарида

Абрамова А.Ю.^{1,2}, Козлов А.Ю.^{1,2}, Перцов С.С.^{1,2}

¹ — ФГБУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

² — МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия, pansy71@prphys.ru

Современные сведения об участии иммунных факторов в регуляции болевой чувствительности у млекопитающих дают основание полагать, что нарушения нейроиммунных взаимоотношений являются типовыми механизмами патогенеза болевых синдромов различной этиологии [2]. Актуальным представляется поиск эндогенных биологически активных соединений с иммуномодулирующими свойствами, способных предупреждать патологические изменения болевой чувствительности. Одним из таких веществ является эпифизарный нейрорегулятор мелатонин. Существуют экспериментальные и клинические данные о болеутоляющей и иммуномодулирующей роли мелатонина [1, 5]. Установлено, что мелатонин оказывает анальгетические эффекты, выраженность которых зависит от дозы этого нейрорегулятора [4].

Целью нашего исследования являлось изучение действия мелатонина на перцептуальный и эмоциональный

компоненты ноцицептивной чувствительности крыс в условиях введения липополисахарида (ЛПС). ЛПС относят к классу бактериальных антигенов, запускающих каскад иммунных реакций в ЦНС и периферических тканях [3]. ЛПС широко применяются в экспериментальных исследованиях на животных, как модель активации иммунных процессов.

Опыты проведены на 46 крысах-самцах Вистар. При проведении экспериментов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии ГУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (протокол №1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. Животные были разделены на следующие группы: (I) в/б введение ЛПС в дозе 30 мкг/кг; (II) в/б введение мелатонина в дозе 10 мг/кг; (III) в/б введение мелатонина за 40 минут до введения ЛПС; (IV) в/б введение физиологического раствора (контроль). Ноцицептивные пороги у крыс измеряли в исходном состоянии, а также через 12 часов после введения препаратов. Перцептуальный компонент ноцицепции у животных оценивали по латентному периоду реакции отведения хвоста (сек) в ответ на свето-термальное раздражение методом «tail-flick», а эмоциональный компонент — по порогу вокализации крыс при электрокожном раздражении хвоста (мА). Статистическую обработку данных проводили с помощью соответствующих статистических и аналитических методов с использованием пакета программ Statistica (версия 6.1.478) Microsoft Office Excel 2007. Достоверность различий между исходными показателями ноцицептивных порогов и значениями на фоне действия применяемых препаратов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна—Уитни.

Выявлено, что антигенная стимуляция ЛПС сопровождается значимым усилением перцептуального, но подавлением эмоционального компонента ноцицепции у крыс. Изменения ноцицептивной чувствительности крыс, получавших внутрибрюшинные инъекции мелатонина, были противоположны таковым, обнаруженным под влиянием ЛПС. Введение мелатонина приводило к статистически достоверному подавлению перцептуального, но усилению эмоционального компонента ноцицепции у животных. Установлено, что предварительное внутрибрюшинное введение крысам мелатонина за 40 минут до инъекции ЛПС не влияет на общую направленность, но снижает выраженность изменений ноцицептивной чувствительности, обнаруженных при антигенной стимуляции. Наблюдающиеся при этом изменения болевых порогов животных в ответ на ноцицептивное воздействие не были статистически достоверны.

Таким образом, мелатонин уменьшает выраженность изменений ноцицептивной чувствительности животных в условиях изменения иммунного статуса при воздействии ЛПС. Полученные данные указывают на то, что модулирующее действие мелатонина на болевую чувствительность крыс в этих экспериментальных условиях опосредовано, в частности, иммунными механизмами. Представленные результаты могут лечь в основу разработки показаний к применению мелатонина для лечения пациентов с болевыми синдромами различной этиологии.

Список литературы

1. Арушанян Э.Б., Бейер Э.В. Иммунотропные свойства эпифизарного мелатонина // Экспер. и клин. фармакол. — 2002. — Т. 65, №5. — С. 73—80.

2. Василенко А.М., Захарова Л.А. Нейроиммунология боли: биологические и клинические аспекты // Актуальные проблемы нейроиммунопатологии / Под ред. Крыжановского Г.Н., Магаевой С.В., Морозова С.Г. — М., 2012. — С. 236—284.

3. Basta-Kaim A., Szczesny E., Leskiewicz M., Glombik K., Slusarczyk J., Budziszewska B., Regulska M., Kubera M., Nowak W., Wedzony K., Lason W. Maternal immune activation leads to age-related behavioral and immunological changes in male rat offspring — the effect of antipsychotic drugs // Pharmacol. Rep. — 2012. — Vol. 64, №6. — P. 1400—1410.

4. Laurido C., Pelissie T., Soto-Moyano R., Valladares L., Flores F., Hernandez A. Effect of melatonin on rat spinal cord nociceptive transmission // Neuroreport. — 2002. — Vol. 13(1). — P. 89—91.

5. Wilhelmssen M., Amirian I., Reiter R.J., Rosenberg J., Gogenu I. Analgesic effects of melatonin: a review of current evidence from experimental and clinical studies // J Pineal Res. — 2011. — Vol. 51(3). — P. 270—277.

Нейропатологические особенности реакции адреналэктомированных животных на острую кровопотерю

**Болотских В.И., Крюков В.М., Тумановский Ю.М.,
Макеева А.В., Лидохова О.В., Луцки М.В.**

ГБОУ ВПО ВГМА им. Н.Н. Бурденко, г. Воронеж, Россия

На современном этапе развития медицинской науки возникновение болезни тесно связывают с состоянием реактивности организма, которая в свою очередь определяется особенностями реагирования нервной, эндокринной и иммунной систем на воздействие причинного фактора экзогенного и эндогенного происхождения. Взаимосвязь этих систем, с одной стороны, определяет внутренний гомеостаз, а, с другой стороны, — возникающие нарушения вызывают расстройства функции жизненно важных систем организма и по определению акад. РАМН Г.Н. Крыжановского способствуют формированию в организме дисрегуляторной патологии. Важная роль в этом плане принадлежит нарушению механизмов регуляции системы «гипоталамус—гипофиз» [2, 3]. Реализация функции этой системы осуществляется через кору надпочечников, гормоны которой способствуют формированию метаболических и функциональных механизмов адаптации. Выключение коры надпочечников вызывает глубокие нарушения метаболизма и расстройства деятельности функциональных систем, в том числе и иммунной системы, меняет реакцию организма при развитии патологического процесса на лечебные воздействия.

Цель — изучить влияние адреналэктомии на особенности неспецифической реактивности и резистентности при острой кровопотере и реакцию электролитов крови (натрия и калия) у белых крыс в условиях гипербарической оксигенации (ГБО).

Работа выполнена на 30 крысах массой 180—200 г. Адреналэктомию у крыс проводили по методу М.Я. Кабака в нашей модификации [1]. В опыт адреналэктомированные животные поступали через 10 дней после операции. Острую кровопотерю у всех животных моделировали путем кровопускания из яремной вены. Методом пламенной фотометрии в эритроцитах и плазме крови определяли содержание натрия и калия. Эксперименты выполнены в двух сериях опытов:

• I — анемизированные животные, контрольная группа (15 крыс);

• II — адреналэктомированные анемизированные животные, опытная группа (15 животных).

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали, что адреналэктомированные животные оказались очень чувствительны к кровопотере. Если у интактных животных агональное состояние наступало после кровопускания в объеме 2,8% т массы тела, то у крыс, лишенных надпочечников, агония развивалась при кровопотере объемом в среднем 1,5—1,8% от массы тела, т.е. чувствительность к кровопотере у опытных животных повышалась в 1,5 раза относительно интактных крыс. При этом длительность агонального периода значительно варьировала (от 15 до 40 мин), что связано с особенностями нарушения метаболизма при удалении надпочечников.

Все экспериментальные животные после кровопотери были подвергнуты воздействию гипербарической оксигенации ($pO_2 = 300$ кПа, продолжительность сеанса — 60 мин). Из 15 адреналэктомированных крыс 4 животных выжило, 5 погибло в барокамере, 6 крыс погибли после декомпрессии в течение первых 30 мин. Выживаемость экспериментальных крыс без надпочечников (II серия опытов) составила 29,5%, в то время как у интактных животных выживаемость в барокамере составила 70,5%. Следовательно, адреналэктомированные животные при геморрагическом шоке не способны воспользоваться «сверхнасыщением» крови кислородом для восстановления жизненных функций в связи с глубокими нарушениями клеточных метаболических процессов в условиях надпочечниковой недостаточности.

Исследование электролитов в плазме и эритроцитах показало, что у анемизированных крыс, лишенных надпочечников, статистически достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с интактными крысами снижалось на 8% содержание в плазме натрия и возрастал уровень калия на 21%. В эритроцитах отмечено только снижение содержание натрия на 19%, в то время как концентрация калия в эритроцитах оставалась практически без изменений.

Можно предполагать, что гиперкалиемия в условиях адреналэктомии связана с потерей внутриклеточного калия внутренними органами. Уменьшение концентрации внутриклеточного калия приводит, как известно, к резкому снижению порога возбуждения, и в условиях адреналэктомии животные становятся более чувствительными к разнообразным воздействиям. С другой стороны, потеря натрия организмом обуславливает уменьшение активности адренергических влияний, что может быть одним из важных механизмов метаболической инертности, которая при острой кровопотери еще более усугубляется и становится ведущим патогенетическим звеном в условиях адреналэктомии. Тот факт, что адреналэктомированные анемизированные животные в условиях резкого угнетения обмена веществ не способны в условиях ГБО использовать имеющийся в избытке кислород для восстановления жизненных функций в отличие от интактных крыс, отражает особенности проявления адаптивных механизмов действия гипербарического кислорода и требует разработки эффективных терапевтических методов коррекции возникающих в организме нейроэндокринных расстройств.

Список литературы

1. Крюков В.М. и др. Влияние гипербарической оксигенации на течение геморрагического шока у адреналэктомированных животных // Ученые-медики — практическому здравоохранению

нию: Краткие тезисы докладов итоговой научной сессии, март 1989. — Воронеж, 1989. — С. 164—166.

2. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2002. — №3. — С. 2—19.

3. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология и патологические интеграции в нервной системе // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2009. — Т. 109, №1. — С. 4—9.

Оценка связи уровня иммуноглобулинов и активности комплемента с возрастом и полом у детей, больных расстройством аутистического спектра

Васильева Е.Ф., Фактор М.И., Карпова Н.С., Симашкова Н.В., Брусков О.С.

ФГБУ «Научный центр психического здоровья», РАМН, Москва, Россия

В настоящее время установлено, что система комплемента представляет собой комплекс, состоящий более чем из 20 взаимодействующих глобулярных белков сыворотки крови человека, находящихся обычно в малоактивном состоянии и активирующихся при соединении антигена с антигеном или при агрегации антигена.

Известно, что комплемент является компонентом многих иммунологических реакций, направленных на освобождение организма от разных инфицирующих агентов, опухолевых клеток, трансплантата, некоторых токсинов, а также трансформированных собственных клеток, при попадании которых в организм происходит активация комплемента, в результате чего чужеродные клетки лизируются, а токсины и вирусы нейтрализуются. В исследованиях последних лет выявлена потенциальная связь дисфункций в иммунной системе с этиологией и спектром патологических расстройств у детей с расстройством аутистического спектра (РАС) (1). При этом показано, что нарушения иммунных показателей касаются как клеточного, так и гуморального звена иммунитета. При оценке состояния гуморальных показателей у детей с РАС обнаружены изменения в системе комплемента, в частности, повышение активности фактора I комплемента, являющегося одним из главных регуляторных ферментов системы комплемента (инактивация C3b компонента), по сравнению с его значением у здоровых детей (5). В ряде исследований выявлено нарушение в содержании сывороточных иммуноглобулинов А, М, G (IgA, IgM, IgG) (3), наличие в сыворотке крови детей аутоантител к некоторым белкам центральной нервной системы (4), к серотониновым рецепторам; противотканевых аутоантител.

В связи с тем, что сведения по изучению активности комплемента у больных РАС в настоящее время представлены недостаточно, а исследования с одновременным изучением уровня иммуноглобулинов и активности системы комплемента в сыворотке крови больных детей с РАС отсутствуют вовсе, целью настоящей работы было исследование уровня иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG и активности комплемента в сыворотке крови, а также изучение связи этих показателей между собой у здоровых детей и детей, больных РАС.

Проводили сравнительное изучение до лечения активности комплемента (АК) и уровня IgA, IgM, IgG в сыворотке капиллярной крови детей, больных РАС, обоего пола, в возрасте от 1 года до 8 лет (младшая подгруппа) и —

от 8 до 15 лет (старшая подгруппа). В качестве контроля обследовали здоровых детей соответствующего пола и возраста. Значения IgA, IgG и IgM определяли нефелометрическим методом с помощью стандартных диагностических наборов фирмы Turbox (Финляндия) (Orion Diagnostica Turbox IgA, IgG и IgM). АК определяли с помощью разработанного коллективом отечественных авторов аппаратного комплекса БиоЛаТ (2) и программы автоматического биотестирования AutoCiliata по тест-реакции гибели инфузорий *Tetrahymena pyriformis* (штамм WH14, коллекция Всероссийского НИИ Ветеринарной санитарии и экологии) в растворе сыворотки крови. В качестве критерия оценки АК было выбрано время, за которое погибала половина используемых в тесте инфузорий (T_{50}).

Полученные результаты обнаружили достоверно повышенный уровень IgG в общей группе детей, больных РАС, по сравнению с его значением у здоровых детей ($p < 0,001$). Это повышение выявлялось как у больных мальчиков ($p < 0,001$), так и у больных девочек ($p < 0,001$), а также в обеих возрастных подгруппах больных детей ($p < 0,001$) по сравнению с его значением у здоровых детей. Вместе с тем более детальный анализ изменения изучаемых показателей в зависимости от пола и возраста, проведенный отдельно в группах больных и здоровых детей выявил зависимость значений IgG, а также АК от возраста только в группе детей, больных РАС. А именно, достоверно более высокие уровни IgG и АК выявлялись у больных детей старшего возраста по сравнению с их значениями у больных детей младшего возраста ($p < 0,001$; $p < 0,05$ соответственно). При этом существенные изменения уровней IgG и АК, связанные с полом, не отмечены ни у больных, ни у здоровых детей. Остальные исследуемые показатели оставались без изменений во всех изученных подгруппах больных и здоровых детей. Полученные данные могли свидетельствовать о существовании определенной связи между значениями IgG и АК у детей с РАС. Действительно, применение метода статистической обработки позволило установить достоверно выраженную положительную связь между уровнем IgG и АК у больных с РАС (ее достоверность по точному критерию Фишера была равна $p = 0,043$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о вовлечении в патологический процесс у детей, больных РАС, гуморальных факторов иммунитета (в частности, IgG и комплемента), определяющих связанную с возрастом разную степень выраженности хронического течения этого заболевания. Выявленная достоверная связь между уровнем IgG и АК у детей с РАС соответствует классическим представлениям о развитии иммунопатологического процесса с участием IgG в пусковом механизме активации комплемента и может служить основой для выявления в дальнейшем маркеров тяжести протекающего патологического процесса.

Список литературы

1. Ключник Т.П. Состояние врожденного иммунитета при нарушениях развития нервной системы // Психиатрия. — 2007. — №4 (28). — С. 79—85.
2. Черемных Е.Г., Покатаев А.С., Гридунова В.Н. Прибор для биологических исследований // Патент №236191318.10.2006.
3. Castellani M.L., Conti C.M., Kempuraj D.J. et al. Autism and immunity: revisited study // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. — 2009. — Vol. 22. — P. 15—19.

4. Enrstrom A.M., Van de Water J.A., Ashwood P. Autoimmunity in autism // *Curr. Opin. Investig. Drugs.* — 2009. — May. — №10 (5). — P. 463.

5. Momeni N., Brudin L., Behnia F. High Complement Factor I Activity in the Plasma of Children with Autism Spectrum Disorders // *Autism Res. Treat.* — 2012. 2012:868576. doi: 10.1155/2012/868576. Epub 2011. Oct 24.

Система иммунитета в патодинамических механизмах психических расстройств. возможности иммунокоррекции

Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Лобачева О.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН, г.Томск, Россия

В настоящем сообщении кратко изложен анализ материала многолетних исследований по изучению роли системы иммунитета в патодинамических механизмах непсихотических психических расстройств (более 700 чел.) и шизофрении (более 500 чел.), по патогенетическому обоснованию возможности применения иммунокоррекции в комплексе терапии пациентов с целью повышения эффективности лечения. Использованы клинко-психопатологический метод, учитывающий спектр и выраженность симптомологических и синдромологических клинических характеристик психической патологии, и метод лабораторной диагностики широкого спектра показателей врожденного и адаптивного иммунитета.

Наш многолетний опыт показывает, что выбор тактики лечения пациента с психическими расстройствами должен опираться не только на клинко-психопатологические, но и на иммунобиологические критерии. Алгоритм оптимизации терапии на основе клинко-иммунологических подходов представлен следующими этапами. На первом этапе при психопатологическом обследовании (анамнез, нозологические критерии, синдромальная характеристика) особое внимание уделяется выяснению склонности заболевания к затяжному течению, резистентности к психофармакотерапии (по данным предыдущих госпитализаций). На следующем этапе устанавливается наличие клинических синдромов вторичной иммунной недостаточности (инфекционный, аллергический, аутоиммунный, смешанный), сопутствующей соматической патологии, определяется возможность оптимизации нейроиммунного взаимодействия методами экстраиммунотерапии (витаминотерапия, психотерапия, физиотерапия и др.), оказывающих опосредованное позитивное влияние на систему иммунитета. Этап лабораторной диагностики дает возможность идентифицировать дефекты компонентов иммунной системы (клеточного, гуморального, фагоцитарного), определить уровень иммунных нарушений (изменения носят транзиторный характер, стойкие глубокие изменения с признаками иммунодефицита). На основе анализа всех трех этапов становится возможной разработка конкретных схем комплексной психофармакотерапии с включением иммуномодулирующей терапии и определением круга препаратов, способных адекватно корригировать найденные отклонения.

Патофизиологической основой непсихотических психических расстройств является изменение функционального состояния лимбико-диэнцефальной системы — структуры ЦНС, входящей в состав нервной регуляции функций иммунологической защиты. При срыве любой из

систем возникает патология нейроиммунной регуляции [1]. Состояние системы иммунитета у пациентов с непсихотическими психическими расстройствами характеризуется количественным дефицитом Т-лимфоцитов CD2⁺, CD3⁺, хелперов/индукторов CD4⁺, натуральных киллеров CD16⁺, увеличением количества лимфоцитов HLADR⁺-фенотипа, лимфоцитов с Fas-рецепторами готовности к апоптозу CD95⁺, уровня ЦИК, дисбалансом спектра сывороточных иммуноглобулинов. При этом глубина и характер иммунных нарушений сопряжена с клинико-динамическими особенностями заболевания и варьирует от транзиторных при психозадаптационных состояниях и невротических реакциях до выраженного Т-иммунодефицита с формированием клинических синдромов вторичной иммунной недостаточности при вариантах затяжного течения болезни. В формировании пограничной патологии отчетливо проявляется взаимосвязь двух противоположных процессов — саногенеза и патогенеза; психогенные механизмы играют роль триггера в возникновении психической дезадаптации, в дальнейшем, по мере ее прогрессирования, ведущее значение приобретают эндогенные и экзогенно-органические факторы [2]. Стратегия иммунореабилитационных мероприятий при пограничных нервно-психических расстройствах также строится по двум направлениям — экстраиммунотерапии и собственно иммунотерапии. При невротических реакциях ведущим механизмом, определяющим психонейроиммунные взаимодействия, является психогенез. Изменения системы иммунитета в этом случае носят адаптивный характер, сохранность компенсаторных механизмов обуславливает реабилитацию по саногенному типу с предпочтением методов экстраиммунотерапии. Ведущим механизмом психонейроиммунных взаимодействий при затяжных течениях невротических, связанных со стрессом расстройств, осложненных соматической патологией, является соматогенез. Нарушения системы иммунитета в этом случае носят патологический характер, истощение компенсаторных механизмов требует включения собственно иммунотерапии с учетом глубины иммунных нарушений и направленности действия иммуноактивных препаратов. В наших исследованиях показано, что применение реабилитационных программ с включением методов иммунокоррекции повышает стрессоустойчивость пациентов и эффективность базисной терапии при непсихотических психических расстройствах: состояние полного (А) и практического выздоровления (В) достигнуто у 87,5% пациентов, неполного выздоровления (С) — у 12,5%. У больных, принимавших только базисную терапию, состояние «А + В» отмечено в 64,3% случаев, «С» — в 28,6% и незначительное улучшение — у 7,1% пациентов.

Комплексное клинко-иммунологическое исследование больных шизофренией выявило нарушения функционирования системы иммунитета, характеризующиеся дисбалансом иммунорегуляторных Th1/ Th2 цитокинов с усилением Th2-иммунного ответа, сопряженностью иммунной реактивности с клиническими формами, длительностью заболевания, психофармакотерапией. Особую сложность в лечении больных шизофренией представляют побочные эффекты и осложнения, резистентность к психотропным препаратам, возникающие при длительной психофармакотерапии. Для оптимизации лечения больных шизофренией и преодоления терапевтической резистентности разработаны различные программы с включением иммуномодулятора тимогена по разным схемам: внутримышечно или ин-

траназально, на фоне психофармакотерапии или на фоне отмены психотропных средств. Дезадаптирующее влияние нейрорептиков на организм связано с их токсичностью и выражается в экстрапирамидных расстройствах, соматовегетативных проявлениях, токсико-аллергических и других побочных эффектах. Для их преодоления разработан способ сорбционной детоксикации с использованием энтеросорбента СУМС-1, относящийся к методам экстраиммунотерапии, а также способ энтеросорбции в сочетании с тимогеном. На разработанные способы получены патенты РФ. Комплексные программы позволяют оптимизировать нейроиммунное взаимодействие, повысить чувствительность к психофармакологическим препаратам и эффективность терапии. В наших исследованиях преодоление терапевтической резистентности с редукцией психопатологической симптоматики наблюдалось у 61–73% больных, получавших тимоген (в группах сравнения 32–40%); исчезновение или значительное уменьшение побочных проявлений нейрорептической терапии (особенно токсико-аллергических) — у 60–80% пациентов, получавших энтеросорбент СУМС-1 (в группах сравнения 21–42%). В целом приведенные исследования позволяют сделать заключение о патогенетической обоснованности применения технологии иммунокоррекции в комплексе лечения пациентов с психическими расстройствами. Наиболее важными механизмами иммунотерапии, освещенными в данном сообщении, являются: превенция стрессиндуцированных иммунодефицитов при непсихотических психических расстройствах и риска их затяжного течения; регуляция Th-1/Th-2 иммунного ответа, детоксикация, преодоление терапевтической резистентности, уменьшение побочных проявлений нейрорептической терапии при шизофрении.

Список литературы

1. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В., Сепиашвили Р.И. Нейроиммунопатология. Руководство. — М.: Изд-во НИИ общей патологии и патофизиологии, 2003. — 438 с.
2. Семке В.Я. Превентивная психиатрия. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 1999. — 404 с.

Аутоантитела к возбуждающим и тормозным аминокислотам у больных опийной наркоманией

*Ветрилэ Л.А.¹, Фомина В.Г.¹, Невидимова Т.И.²,
Ветлугина Т.П.², Захарова И.А.¹, Батухтина Е.И.²,
Савочкина Д.Н.², Давыдова Т.В.¹*

¹ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Москва, Россия

² — ФГБУ «НИИ психического здоровья СО РАМН», Томск, Россия

Глутаматергическая нейромедиация вовлечена в регуляцию важнейших физиологических процессов высшей нервной деятельности: поведенческой активности, процессов обучения и памяти, физиологических механизмов тревоги и агрессии. Получены многочисленные данные о существенном значении возбуждающих медиаторных аминокислот и их рецепторов в патогенезе ряда неврологических и психических расстройств: психоэмоциональный стресс-синдром, болевой синдром, болезнь Альцгеймера, эпилепсия и др. Доказано, что даже небольшие дозы опиатов изменяют специфическую активность ряда нейромедиаторных систем, включая глутамат-

ГАМК-ергических. Экспериментальными исследованиями было установлено, что повторные применения кокаина приводило к глубоким изменениям глутаматергической трансмиссии в лимбических структурах, в частности в *n.acumbens*. Важную роль в развитии опиатной зависимости играют NMDA-рецепторы, поддерживающие постоянный уровень опиатов [Schmidt H.D., Pierce R.C. 2010; Jamie Peters, Taco J. De Vries, 2012]. У больных опийной наркоманией в период абстинентного синдрома и в стадии ремиссии наблюдали устойчивое снижение уровня ГАМК [Востриков В.В., 2004]. Наркотическая зависимость — это сложный нейрорепатологический синдром, в формировании которого наряду с центральной нервной системы важная роль принадлежит иммунной системе. Установлена тесная взаимосвязь между нарушением функции нейротрансмиттерных систем и индукцией аутоантител к нейромедиаторам. Показано усиленная продукция аутоантител к нейромедиаторам дофамину, серотонину и норадреналину, а также и к глутаматным рецепторам, к мю-опиоидным рецепторам при различных формах наркотической зависимости у людей и в условиях экспериментальной опийной наркомании.

Целью настоящей работы было изучение возможности образования аутоантител к глутамату и ГАМК у больных наркоманией в динамике развития заболевания.

Методика и результаты исследования. Работа проведена на базе отделения аддиктивных состояний и лаборатории клинической психонейроиммунологии Томского НИИПЗ СО РАМН. Исследована сыворотка крови 129 больных с клиническим диагнозом «Психические и поведенческие расстройства вследствие употребления опиоидов» в возрасте 16–28 лет и с длительностью употребления наркотиков в течение 2–3 лет. Контролем служила сыворотка крови 63 здоровых добровольцев соответствующего возраста. Аутоантитела к глутамату и ГАМК в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на полистироловых планшетах, активированных тест-антигеном. В качестве тест-антигена использовали конъюгат нейромедиатора с бычьим сывороточным альбумином. В качестве вторичных антител использовали антитела к иммуноглобулинам человека, меченные пероксидазой хрена (МЕДГАМАЛ). Уровень выявляемых аутоантител выражали коэффициентом «К», который представляет собой отношение оптической плотности в ИФА сыворотки каждого больного к среднему значению оптической плотности сывороток доноров. Аутоантитела к исследуемым нейромедиаторам в невысоком титре выявлялись у всех здоровых лиц. Так, уровень аутоантител к глутамату составил в среднем $0,93 \pm 0,029$ усл.ед., а к ГАМК — $0,94 \pm 0,035$ усл.ед. У больных наркоманией наблюдали более интенсивную продукцию аутоантител к глутамату и ГАМК. Аутоантитела к глутамату и ГАМК у больных опийной наркоманией были обнаружены в количестве $1,34 \pm 0,037$ и $1,27 \pm 0,038$ усл.ед. соответственно. Представляет интерес характер изменения уровня аутоантител к глутамату и ГАМК в зависимости периода заболевания. Все больные были разделены на 3 группы: ремиссии ($n = 14$), подострой ($n = 98$) и острой ($n = 17$) абстиненции. Период ремиссии характеризуется низким уровнем аутоантител к глутамату и ГАМК ($1,12 \pm 0,1$ и $1,06 \pm 0,09$ усл.ед. соответственно). Такая же тенденция характерна и для больных в периоде острой абстиненции, уровень аутоантител

к глутамату и ГАМК у которых составил $1,17 \pm 0,07$ и $1,19 \pm 0,09$ усл.ед. соответственно. Период подострой абстиненции характеризуется наиболее высоким уровнем аутоантител к глутамату ГАМК: соответственно $1,397 \pm 0,043$ и $1,314 \pm$ усл.ед. Полученные данные предполагают рассматривать уровень аутоантител к глутамату и ГАМК как объективный диагностический признак стадии развития заболевания. Представляет интерес изучение роли аутоантител к глутамату и ГАМК в патогенезе развития наркотической зависимости. Экспериментальными исследованиями при других патологиях ЦНС (стресс-индуцированный синдром, нейропатический болевой синдром, эпилепсия, болезнь Альцгеймера) на крысах и мышах установлена протективная роль антител к глутамату при их внутрибрюшинном и интраназальном введении [Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. и др., 2013; Кукушкин М.Л., Игонькина С.И. и др., 2007]. Ранее проведенными исследованиями было показано, что одноразовое внутрибрюшинное введение антител к ГАМК способствовало существенному снижению признаков абстинентного синдрома, вызванного введением налоксона, у морфинизированных крыс и значительно увеличили антиноцицептивный эффект морфина у морфинзависимых мышей [Vetrile L.A., Evseev et al. 1998].

Список литературы

1. Ветрилэ Л.А., Захарова И.А. Влияние антител к глутамату на развитие стресс-реакций и содержание нейромедиаторов в гиппокампе и гипоталамусе крыс с разной поведенческой активностью // Бюллетень эксперим. биол. и мед. — 2013. — Т. 155, №3. — С. 293—298.
2. Востриков В.В. Активность MAO-B, уровни ГАМК и аутоантител к глутаматным и опиатным рецепторам в крови при медикаментозном лечении больных алкоголизмом и наркоманией: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — СПб., 2004.
3. Кукушкин М.Л., Игонькина С.И. и др. Влияние антител к глутамату и ГАМК на развитие центрального болевого синдрома // Боль. — 2007. — №3(16). — С. 8—11.
4. Vetrile L.A., Evseev V.A., Basharova L.A. et al. GABA antibodies: Effect on experimental opiate addiction. 11th ECNP congress. Paris—France, 1998, October 31 — November 4. — P. 8.
5. Schimdt H.D., Pierce R.C. Cocaine-induced neuroadaptation in glutamate transmission: potential therapeutic targets for craving and addiction // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2010. — Vol. 1187(2). — P. 35—75.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00673.

Поражение зрительных путей при рассеянном склерозе у детей

Войтенков В.Б.¹, Скрипченко Н.В.¹, Клишкин А.В.¹, Суровцева А.В.¹, Скрипченко Е.Ю.²

¹ — ФГБУ Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9

² — ГБОУ СПб Государственный педиатрический медицинский университет Минздрава РФ, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Целью нашей работы было нейрофизиологическое исследование состояния зрительных путей при рассеянном склерозе у детей.

Материалы и методы. Обследовано 24 пациента с РС и 27 детей группы сравнения. Группа сравнения — 10 мальчиков и 17 девочек, средний возраст 12,9 года. Группа РС — 7 мальчиков и 17 девочек. Средний возраст 13,9 года. Наблюдались глазодвигательные (5 чел.) нарушения и сенсорно-двигательные расстройства — гемипарез, (4 человека), гемигипестезии (3 пациента), центральный неврит лицевого нерва (2 пациента) и вестибулярные нарушения (10 пациентов). Жалобы на нарушение зрения, боли в глазу, снижение остроты зрения предъявляли 8 чел. Средний балл шкалы EDSS группы РС составлял 3,5; варьировал от 2 до 6,5. У всех пациентов по данным МРТ и данным анализа ликвора на олигоклональные антитела установлен диагноз РС. По данным осмотра офтальмолога, у 9 пациентов был выставлен диагноз «ретробульбарный неврит». В 1 случае выявлена центральная абсолютная скотома, в одном случае — субатрофия зрительного нерва. Миопия слабой степени выявлена у 2 пациентов. У остальных 20 пациентов осмотр окулиста отклонений не выявил. Длительность заболевания к моменту проведения исследования варьировала от 1 до 62 суток, средний срок проведения исследования с момента первых жалоб составлял 30 суток. Таким образом, исследование у всех пациентов проводилось на стадии развернутой клинической проявлений дебюта РС. Всем пациентам проводилось исследование зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) на шахматный паттерн.

Результаты. Среднее значение латентного периода P100 в группе контроля (54 глаза) составляла $97,6 \pm 3,9$ мс, в группе пациентов с РС (48 глаз) составляла $111,5 \pm 6,3$ мс. Среднее значение амплитуды пика N75-P100 в группе контроля было $11,8 \pm 6,3$ мкВ, в группе пациентов с РС — $6,8 \pm 3,3$ мкВ. Различия по латентному периоду P100 и амплитуде пика N75-P100 между группой контроля и группой РС достоверны ($p < 0,05$). В группе РС отклонения от медицинской нормы по показателям латентности (латентность P100 более 110 мс) с одной из сторон выявлено в 14 случаях (58%). Двустороннее удлинение латентности P100 более 110 мс выявлено в 5 случаях (21%). Понижение амплитуды N75-P100 с одной из сторон ниже 4 мВ выявлено в 7 случаях (29%). Билатерально понижение амплитуды N75-P100 ниже 4 мВ наблюдалось в 2 случаях (8%). Из 14 случаев, в которых выявлено удлинение латентности P100 более 110 мс, в 9 по данным осмотра окулиста был установлен диагноз «ретробульбарный неврит», у остальных 5 пациентов офтальмологом патологических изменений выявлено не было.

Выводы:

1. При РС у детей, в том числе без признаков ретробульбарного неврита в клинике, более чем в половине случаев наблюдается достоверное нарушение проведения по зрительным путям;

2. Эти изменения преимущественно носят демиелинизирующий характер, нарушения аксонального типа встречаются реже;

3. Зрительные вызванные потенциалы позволяют проводить объективную оценку состояния зрительных путей у пациентов детского возраста с рассеянным склерозом;

4. С помощью данной методики также возможны выявление очагов поражения, не проявляющихся клинически, и ранняя диагностика рассеянного склероза.

Центральные моторные пути у детей в периоде реконвалесценции после серозного менингита

Войтенков В.Б., Скрипченко Н.В.,
Матюнина Н.В., Клишкин А.В.

ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА России,
Санкт-Петербург, Россия

Известно, что после перенесенных серозных менингитов в части случаев в течение продолжительного времени наблюдается рассеянная неврологическая микросимптоматика и когнитивный дефект. Причины данного явления не ясны.

Целью работы было изучения состояния центральных моторных путей в раннем восстановительном периоде после перенесенного серозного менингита у детей с помощью транскраниальной магнитной стимуляции (ТКМС).

Материалы и методы. Исследовано 49 чел.: 26 пациентов с серозным менингитом (средний возраст 12 лет, 7—17 лет; 9 девочек, 17 мальчиков) и 23 пациента группы контроля (средний возраст 11 лет, 8—16 лет; 9 девочек, 14 мальчиков). Сроки проведения исследования: 4—5 недели после выписки пациента из стационара (санация ликвора, исчезновение температуры, общемозговой симптоматики и интоксикации). Всем пациентам проводилась диагностическая ТКМС с рук и ног (с *m. abductor hallucis* и *m. abductor pollicis brevis* с двух сторон) с исследованием формы, порога и латентности корковых и сегментарных ВМО (вызванный моторный ответ), времени центрального моторного проведения (ВЦМП), асимметрии ВЦМП между сторонами (в мс).

Результаты. Все пациенты хорошо перенесли исследование, жалоб на болевые ощущения, повышенную сонливость не было. В группе серозных менингитов дисперсность корковых ВМО наблюдалась в 54% случаев (14 из 26), в группе контроля — в 39% случаев (9 из 23). Снижение амплитуды корковых ВМО с рук ниже 2 мВ наблюдалось в группе контроля в 39% случаев (9 из 23), в группе серозных менингитов — в 73% случаев (19 из 26); с ног ниже 1 мВ в группе контроля в 47% случаев (11 из 23), в группе серозных менингитов — в 69% случаев (18 из 26). Удлинение латентности корковых ВМО более 40 мс с ног в группе контроля не встречалась ни разу, в группе серозных менингитов — в 15% случаев (4 из 26). ВЦМП с ног превышала 20 мс в группе серозных менингитов в 12% случаев (3 из 26), в группе контроля ни в одном случае. Асимметрия ВЦМП более 2 мс зарегистрирована в 1 случае в группе серозных менингитов (3%), в группе контроля ни в одном случае. Порог возникновения ВМО был повышен выше 90% в 47% случаев в группе контроля (11 из 23) и в 70% случаев в группе серозных менингитов (18 из 26).

В группе серозных менингитов по сравнению с группой контроля отмечалась тенденция к более низкой амплитуде коркового ВМО, удлинению латентности корковых ВМО с ног; большей разнице ВЦМП при измерении с ног. При анализе каждого конкретного случая выявлено, что в группе серозных менингитов чаще регистрировалось выраженное снижение амплитуд ВМО, повышение их порога выше 90%. Дисперсность ВМО в группах контроля и менингитов была сравнимой.

Выводы. После перенесенного серозного менингита у части пациентов (69—73%) наблюдаются изменения диффузного характера, характерные для нарушения возбудимости мотонейронов коры (снижение амплитуд вы-

званных моторных ответов), которые, учитывая значительный срок, прошедший с момента прекращения клинической симптоматики (4—5 недель), также могут рассматриваться как признаки снижения их количества (атрофические изменения). Признаки поражения аксонов (значительное удлинение латентностей ВМО) регистрируются у 12—15% пациентов. Выявляемая у пациентов дисперсия проведения по моторным путям сравнима с таковой у группы контроля и может быть объяснена не закончившейся миелинизацией центральных моторных путей. Можно предполагать, что перенесенный серозный менингит вызывает у части пациентов поражение вещества головного мозга, сохраняющееся в течение 4—5 недель после прекращения клинической симптоматики; это поражение связано со снижением функциональной активности нейронов и, возможно, частичной их гибелью. Вопрос о природе и распространенности данного явления является предметом дальнейшего изучения.

Содержание субпопуляционного состава CD4⁺, CD8⁺ и CD16/32⁺ лимфоцитов в селезенке и периферической крови мышей линии СВА при стимуляции мю- и дельта2- опиоидных рецепторов

Геварьян М.М., Чейдо М.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН,
Новосибирск, Россия

Многочисленные работы свидетельствуют об участии опиатов и опиоидных пептидов в регуляции иммунной функции организма. Предыдущими исследованиями нами установлен дифференцированный характер влияния мю- [1, 3] и дельта- [2] опиоидных систем мозга на интенсивность иммунного ответа (соответственно, иммуностимуляция и иммуносупрессия) у мышей и крыс. Вместе с тем к настоящему времени практически не изучены более тонкие клеточные механизмы обеспечения опиоидергической нейроиммуномодуляции. В последнее время растет количество сообщений о важной роли для развития иммунного ответа определенных субпопуляций иммунокомпетентных клеток, отличающихся функциональной гетерогенностью, дисбаланс которых может привести к иммунопатологиям. Прежде всего, это касается CD4⁺- и CD8⁺-Т-лимфоцитов, выполняющих, в основном хелперную и супрессорную/цитотоксическую функции в иммунном ответе, соответственно, а также особой субпопуляцией клеток — естественных киллеров CD16/32⁺.

Цель работы. Представлялось важным выявить и сопоставить распределение данных клеточных субпопуляций в селезенке и периферической крови у интактных (неиммунизированных) и иммунизированных мышей линии СВА в условиях активации мю- и дельта2-опиоидных рецепторов (дельта2-ОР).

Методы. Работа выполнена на 84 половозрелых мышах-самцах линии СВА в соответствии с существующими международными этическими и научными стандартами, изложенных в Директивах Европейского сообщества (86/609/ЕС) и одобренных Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН. Селективные агонисты дельта2-ОР (DSLET, Sigma, USA) и мю-ОР (DAGO, Sigma,

USA) в дозе 100 мкг/кг вводили в/б в 0,2 мл физиологического раствора за 30 мин до забоя (группа неиммунизированных мышей) или до иммунизации эритроцитами барана (ЭБ) (5×10^8) в хвостовую вену в 0,5 мл физиологического раствора. Контрольные животные получали соответствующие объемы растворителя по той же схеме. Процентное содержание CD4⁺-, CD8⁺- и CD16/32⁺-клеток в периферической крови и селезенке неиммунизированных и иммунизированных мышей с введением опиоидов определяли на проточном цитофлуориметре «FACS Calibur» (Becton Dickinson, USA). Статистическую обработку результатов проводили с помощью парного сравнения по t-критерию Стьюдента и с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с использованием компьютерной программы «Statistica for Windows» ver. 10.0.

Результаты. Анализ субпопуляционного состава клеток у неиммунизированных мышей при избирательном воздействии селективного агониста дельта2-ОР DSLET показал, что количество CD4⁺-Т-клеток по сравнению с показателями в группе животных без препарата (контроль) практически не изменилось ни в периферической крови [F1,29 = 1,32; p>0,05], ни в селезенке [F1,32 = 1,57; p>0,05]. В отличие от этого в первом случае заметно возрос уровень CD8⁺-Т-лимфоцитов [F1,29 = 10,82; p<0,001] и наметилась тенденция к его повышению в селезенке. Подобное изменение CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток вызвало в результате падение в периферической крови иммунорегуляторного индекса (соотношение CD4⁺/CD8⁺) ($0,9 \pm 0,04$ против $2,08 \pm 0,27$ в контроле) [F1,36 = 24,25; p<0,001] и не изменило его величину в селезенке. Примечательно, что на фоне введения животным ЭБ вышеуказанные эффекты стали более выраженными. Так, в периферической крови наряду с дальнейшим нарастанием числа CD8⁺-Т-клеток [F1,11 = 52,19; p<0,001] наблюдается снижение (почти в 2 раза) количества CD4⁺-Т-хелперов [F1,10 = 129,8; p<0,001]. В то же время в селезенке отмечается существенное накопление и CD4⁺ [F1,14 = 20,36; p<0,001] и в большей степени CD8⁺ [F1,14 = 58,64; p<0,001] субпопуляций. Подобная картина клеточного распределения по сравнению с контрольными значениями коррелирует с более значительным снижением соотношения CD4⁺/CD8⁺-Т-клеток в периферической крови ($0,63 \pm 0,04$ против $3,04 \pm 0,07$) [F1,11 = 46,24; p<0,001], чем в селезенке ($0,78 \pm 0,06$ против $1,21 \pm 0,06$) [F1,14 = 23,6; p<0,001]. Избирательная активация мю-ОР DAGO в отсутствие антигена коснулась CD8⁺-Т-лимфоцитов, уровень которых уменьшился в периферической крови [F1,19 = 4,94; p<0,05] и селезенке [F1,36 = 4,95; p<0,05], где одновременно произошло достоверное снижение CD4⁺-Т-хелперов [F1,27 = 7,18; p<0,01]. В этой ситуации отмечается возрастание индекса иммунореактивности в крови (до $2,91 \pm 0,03$ против $2,08 \pm 0,23$ в контроле) [F1,39 = 4,63; p<0,05] и селезенке (до $1,39 \pm 0,08$ против $1,25 \pm 0,14$) [F1,35 = 4,63; p<0,05]. Иммунизация животных на фоне влияния DAGO сопровождалась преобладанием в сравнении с контролем хелперных CD4⁺-Т-клеток в периферической крови [F1,16 = 17,64; p<0,001]. При этом статистически достоверных различий между анализируемыми группами мышей по процентному содержанию CD8⁺-Т-лимфоцитов не обнаружено. В этом случае иммунорегуляторный индекс повысился только в крови ($1,50 \pm 0,06$ против $0,90 \pm 0,14$) [F1,24 = 18,24; p<0,001], а

в селезенке наметилась лишь тенденция к его повышению ($1,19 \pm 0,03$ против $1,02 \pm 0,07$) [F1,23 = 2,20; p>0,05]. Полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием DSLET и DAGO, активирующих разные типы ОР, происходит характерное для каждого из агонистов перераспределение CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток в периферической крови и селезенке. Более глубокие изменения процесса наблюдаются при введении на этом фоне антигена, что, по-видимому, и определяет различный уровень опиоид-индуцированной иммунной реактивности. Реализация иммуносупрессии, вызванной DSLET, обеспечивается преобладанием в периферической крови и селезенке CD8⁺-Т-клеток с супрессорной/цитотоксической функцией. Напротив, существенным компонентом интраиммунного стимулирующего механизма DAGO является накопление в обоих случаях CD4⁺-Т-хелперов. Интересно отметить, что, несмотря на противоположное влияние DSLET и DAGO на содержание CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток и иммунный ответ, в отношении CD16/CD32⁺-лимфоцитов агонисты проявляют однонаправленный эффект. Это выражается в достоверном снижении их процентного содержания по сравнению с контролем в периферической крови и селезенке, как у контрольных животных, так и после введения им ЭБ. Вместе с тем обращают на себя внимание различия по степени выраженности эффектов опиоидов. Так, под влиянием DSLET наиболее глубокие изменения CD16/CD32⁺-клеток четко проявляются в селезенке у неиммунизированных [F1,15 = 6,84; p<0,01] и иммунизированных [F1,9 = 58,85; p<0,001] мышей. В то же время при введении DAGO более существенный сдвиг в сторону снижения процента этих клеток происходит в периферической крови интактных [F1,16 = 26,79; p<0,001] и с введением антигена [F1,13 = 91,12; p<0,001] животных.

Заключение. Таким образом, активация дельта2- и мю-ОР сопровождается отличающимися изменениями субклеточного состава и соотношения CD4⁺/CD8⁺-Т-лимфоцитов в периферической крови и селезенке мышей линии СВА. Выявленные закономерности, по-видимому, являются предрасполагающим фактором дифференцированного влияния DSLET и DAGO на формирование иммунного ответа при введении животным антигена.

Список литературы

1. Чейдо М.А., Идова Г.В. // Успехи физиол. наук. — 2009. — Т. 40, №2. — С. 12—25.
2. Cheido M., Idova G., Devoino L. // Intern. J. Neurosci. — 1996. — Vol. 84. — P. 195—203.
3. Devoino L., Cheido M., Alperina E., Idova G. // Intern. J. Neurosci. — 2003. — Vol. 113. — P. 1381—1394.

Закономерности развития нейроиммунных процессов при прогрессирующей нейродегенерации

Грудень М.А.

ФГБУ "НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина" РАН

В настоящее время показано, что определенные промежуточные формы белковых агрегатов, таких как растворимые олигомеры амилоидогенных белков обладают выраженной токсичностью и индуцируют апоптоз клеток нервной системы при нейродегенеративных заболеваниях. Этот факт инициировал исследования, направленные на изучение иммунологической защиты нейронов и глиальных клеток от

**Патогенетическое обоснование
эффективности использования озона и гипоксена
в период алкогольной абстиненции**

Долгих В.Т., Куреков И.В., Золотов А.Н., Таран Н.И.

Омская государственная медицинская академия, Россия

Уровень заболеваемости алкогольными психозами за последние годы возрос на 7% и составляет свыше 60,0 на 100 тысяч населения [3, 5]. Они развиваются вследствие длительной алкогольной интоксикации, нарушающей обмен веществ и поражающей внутренние органы [1, 4]. Наиболее часто в клинике встречается алкогольный делирий, острый алкогольный галлюциноз и острый алкогольный бредовый психоз с развитием тяжелой полиорганной недостаточности [2]. Поскольку нельзя полностью решить эту проблему, то необходимо найти пути наиболее эффективной патогенетической терапии.

Цель исследования — на основе патофизиологического анализа механизмов развития металкогольного психоза в условиях измененной реактивности организма патогенетически обосновать эффективность использования озона и гипоксена для повышения резистентности и предотвращения развития психоза в период абстиненции, увеличения продолжительности ремиссии и улучшения качества жизни пациентов.

Исследования проведены на базе Городской клинической больницы скорой медицинской помощи №1 г. Омска. Обследовано 228 пациентов с тяжелой степенью алкогольного абстинентного синдрома (ААС). В I группу включено 55 больных, получавших стандартную детоксикационную терапию, включавшую 5% раствор глюкозы (800 мл/сут.); 4% раствор КСl (10 мл/сут.); 25% раствор MgSO₄ (10 мл/сут.); 2,4% раствор эуфиллина (5 мл/сут.); 1% раствор тиамин хлорида (5 мл/сут.); 0,9% раствор NaCl (800 мл/сут.); 5% раствор аскорбиновой кислоты (5 мл/сут). Общий объем инфузии 1600 мл/сут. Во II группе (n = 53) наряду со стандартной детоксикационной терапией использовали озонированный физиологический раствор хлорида натрия (400 мл/сут. с концентрацией озона 1200 мкг/л). В III группе (n = 57) на фоне стандартного лечения применяли 7% раствор гипоксена в объеме 4 мл. В IV группе (n = 63) в дополнение к стандартной детоксикационной терапии больные получали гипоксен и озонированный раствор хлорида натрия в той же дозировке в течение 7 дней. V группа (n = 30) — здоровые мужчины того же возраста, не злоупотреблявшие алкоголем.

Использовали клинические, биохимические, гематологические, биофизические и статистические методы исследования. Исследовали психоневрологический статус, оценивая уровень сознания, наличие психомоторного возбуждения, чувство тревоги и продуктивной симптоматики: бред, галлюцинации. Кроме того, исследовали также когнитивные функции, память, мышление, критику с использованием шкалы психического статуса, а также степень выраженности алкогольного абстинентного синдрома. Определяли содержание эритроцитов и гемоглобина, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. В сыворотке крови исследовали содержание общего белка, глюкозы, билирубина, мочевины, мочевой кислоты, холестерин и триглицериды, активность трансаминаз. Регистрацию хемиллюминесценцию плазмы крови осуществляли «Хемиллюмино-

токсических форм амилоидных структур. На примере различных амилоидогенных белков и пептидов — биохимических маркеров болезни Альцгеймера (БА) и болезни Паркинсона (БП) и неспецифических белков (инсулин и лизоцим человека) методами ELISA и дот-блот анализа в сыворотках крови БА и БП пациентов определяли аутоантитела (АТ) к мономерным, олигомерным и фибриллярным структурам изучаемых белков, а также количество иммунокомпетентных клеток. На ранних стадиях нейродегенеративного процесса детектированы высокие титры антител к мономерным маркерным белкам: при БА — A β ₍₂₅₋₃₅₎, A β ₍₁₋₄₂₎ и при БП — α -synuclein и их токсическим олигомерным структурам. Обнаружена прямая корреляция уровня АТ к данным структурам и нарушениями когнитивных функций у обследованных пациентов с БА. Выявлены изменения в клеточном звене иммунитета при прогрессирующей нейродегенерации. Полученные данные свидетельствуют о протекции организма через механизмы специфического иммунитета от токсических белковых структур амилоидогенных белков.

Биомаркеры артериальной гипертензии у пациентов с нормотонией, предгипертензией и гипертензией

*Брудень М.А.¹, Шерстнев В.В.¹, Елистратова Е.И.¹,
Кяршина В.П.², Кузнецова А.В.³, Рыжова Т.В.⁴, Рыжов В.М.²,
Сенько О.В.⁵*

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина" РАМН,

² — Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Медико-санитарная часть №170",

³ — Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН,

⁴ — Федеральное государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Институт повышения квалификации" ФМБА России,

⁵ — Вычислительный центр им. А.А. Дородницына РАН, Москва, Россия

Исследование прогностических и диагностических молекулярных маркеров артериальной гипертензии (АГ) в настоящее время представляет одно из наиболее актуальных и перспективных направлений в разработке проблемы профилактики АГ. В последние годы активно исследуется проблема предгипертензии (АД 120/80 — 139/89 мм.рт.ст.), при которой имеются достоверно более высокие риски развития АГ, ее осложнений и смертности по сравнению оптимальным АД — <120/80 мм.рт.ст. Предложена панель молекулярных факторов — потенциальных биомаркеров персонифицированного риска возникновения АГ: ангиотензин II, аутоантитела к АнгII, атриальный натрийуретический пептид, пептид HLDf24, АТ к HLDf24, эндотелин, аутоантитела к ЭТ, S100b и аутоантитела к S100b. Эти факторы вовлечены в ключевые звенья основных систем регуляции уровня АД и механизмов развития АГ и ее осложнений (инфаркт, инсульт). Изученные потенциальные предикторные биомаркеры артериальной гипертензии могут быть использованы для персонифицированной оценки степени риска возникновения артериальной гипертензии.

Работа поддержана проектом РГНФ №12-06-00709

метром-003», определяя такие параметры хемиллюминограмм как светосумма, вспышка и максимальная светимость. Среди продуктов липопероксидации оценивали содержание диеновых конъюгатов, оснований Шиффа; оценивали активность супероксиддисмутазы. Статистическая обработка результатов включала определение характера распределения; сравнительную оценку групп с использованием параметрических и непараметрических критериев, дисперсионный и корреляционный анализ.

В результате проведенных исследований установлено, что гипоксия смешанного типа и активация процессов свободнорадикального окисления являются ведущими патогенетическими факторами формирования метаболических и психических нарушений алкогольного абстинентного синдрома у больных, страдающих алкоголизмом, приводящие к изменению реактивности организма. Стандартная детоксикационная терапия не оказывает в должной степени антипсихотический эффект: сохраняется чувство тревоги, психомоторное возбуждение, галлюцинозно-бредовый синдром в связи с тем, что не обладает антигипоксическим и антиоксидантным действием. Комплексная терапия, включающая озонированный физиологический раствор хлорида натрия и гипоксен, изменяя реактивность организма, повышает его резистентность, предупреждая развитие алкогольного психоза.

Семидневный курс использования в комплексной терапии озона и гипоксена способствует нормализации обменных процессов, активирует антиоксидантную систему, купирует психотические явления в большей степени, чем монотерапия озоном и гипоксеном. Доказано, что включение в комплексную терапию гипоксена и озона патогенетически обосновано, оказывает выраженный антигипоксический и антиоксидантный эффект, проявляющийся повышением резистентности организма, что сопровождается увеличением периода ремиссии, снижением степени тяжести алкогольного абстинентного синдрома при последующем поступлении, улучшением качества жизни пациентов.

Список литературы

1. Головки А.И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсикодинамику этанола // Биомедицинская химия. — 2013. — Т. 59, №6. — С. 604–621.
2. Попова Е.А., Колржеченко Е.Г., Попов А.А. и др. Современный подход к интенсивной терапии больных с острым отравлением этиловым спиртом // Скорая медицинская помощь. — 2013. — №3. — С. 70–72.
3. Сиволоп Ю.П. Психические расстройства у лиц, злоупотребляющих алкоголем // Психиатрия и психофармакотерапия. — 2011. — Т. 13, №8. — С. 43–49.
4. Adler D.A., Possemato K., Mavandadi S. et al. Psychiatric status and work performance of veterans of operations enduring freedom and Iraqi freedom // Psychiatr. Serv. — 2011. — Vol. 62, №1. — P. 39–46.
5. Pompili M., Serafini G., Innamorati M. Suicidal behavior and alcohol abuse // Int. J. Environ. Res. Public Health. — 2010. — Vol. 7. — P. 1392–1431.

Иммунологическая реактивность у крыс, селектированных на высокую и низкую агрессивность, при изменении активности серотониновых 5-HT_{1A}-рецепторов

Жукова Е.Н., Альперина Е.Л., Идова Г.В.

ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, Новосибирск, Россия

Цель работы. В связи с постоянным ростом агрессии в современном обществе, частом проявлении патологичес-

ких форм агрессивного поведения при различных психопатологических состояниях проблема агрессивного поведения приобретает все большее медицинское и социальное значение. Существенным является то, что, многие психические расстройства, такие как шизофрения, депрессия, повышенная тревожность, аутизм, злоупотребление алкоголем и наркотиками связаны не только с тяжелыми эмоциональными нарушениями и чрезмерной агрессивностью, но и иммунными отклонениями. Многочисленные экспериментальные исследования подтверждают наличие иммунной дисфункции при формировании агрессивного поведения в различных моделях (генетическая предрасположенность, социальная изоляция или хронический социальный стресс) (Petitto et al., 2001; Девойно и др., 2009). Ее особенности в этих условиях могут определяться происходящими при проявлении агрессивных форм поведения изменениями активности нейромедиаторных систем мозга, среди которых ключевую роль играет сертонинергическая (5-HT) система мозга и ее рецепторы. Более того, установлено, что обладающие наибольшим сродством к 5-HT 5-HT₁-рецепторы вносят существенный вклад не только в нейробиологические основы агрессивного поведения, но также участвуют в нейроиммуномодуляции. В связи с этим особую важность приобретает изучение зависимости иммунологической реактивности от функционального состояния 5-HT₁-рецепторов при моделировании агрессивного поведения. Учитывая значение генетических факторов не только для проявления определенных поведенческих реакций, но и функционирования иммунной системы, в настоящей работе проводился анализ уровня иммунного ответа у крыс, селектированных на различную выраженность агрессивного поведения, в условиях изменения активности 5-HT₁-рецепторов.

Методы. Настоящая работа выполнена на самцах серых крыс-пасюков, селектированных в более 70 поколениях в ФГБУН «НИИ цитологии и генетики» СО РАН на высокую агрессивность по отношению к человеку или полное ее отсутствие (Plyusnina et al., 2009). Опыты были проведены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС), и одобрены Комитетами по биомедицинской этике ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН и ФГБУН «НИИ цитологии и генетики» СО РАН.

Для воздействия на функциональную активность 5-HT_{1A}-рецепторов использовался их агонист 8-ОН-DPAT [8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin] (Sigma, USA) в дозах 1,0 и 5,0 мг/кг, активирующих постсинаптические рецепторы, или в дозе 0,1мг/кг, действующей преимущественно на пресинаптические рецепторы данного типа. Препарат, растворенный в дистиллированной воде, в дозах 0,1 и 5,0 мг/кг вводили за 15 мин до иммунизации однократно, а в дозе 1,0 мг/кг двукратно (в день иммунизации за 30 мин до нее и на следующий день). Блокаду 5-HT_{1A}-рецепторов осуществляли высокоселективным антагонистом WAY-100635 [N-(2-[4-(methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl)-N-2-pyriminylcyclohexanecarboxamide trihydrochloride] (Sigma, USA), который растворялся в физиологическом растворе и вводился в дозе 1,0 мг/кг за 30 мин до иммунизации. Оба препарата вводили внутривенно (в/б) в объеме 0,2 мл. Контрольные животные получали соответствующие объемы растворителя. Крысы иммунизировались эритроцитами барана (ЭБ) в/б в дозе

5×10^8 клеток в 0,5 мл физиологического раствора. Иммуно-ный ответ оценивали в селезенке по относительному и абсолютному числу антителообразующих клеток, продуцирующими IgM-антитела (IgM-АОК).

Результаты. При оценке первичного иммунного ответа на ЭБ выявлены существенные межлинейные различия в способности крыс с генетически-обусловленной высокой агрессивностью или её отсутствием отвечать на данный антиген. Так, относительное ($F(1,52) = 12,41$; $p < 0,001$) и абсолютное ($F(1,59) = 12,23$; $p < 0,001$) количества АОК у агрессивных крыс были существенно выше, чем у ручных животных. Активация пресинаптических 5-НТ_{1А}-рецепторов низкой дозой 0,1 мг/кг 8-ОН-ДРАТ у агрессивных крыс не привела к достоверным изменениям иммунной реакции по сравнению с получавшими растворитель агрессивными животными как по относительному числу АОК ($F(1,25) = 1,56$; $p > 0,05$), так и по абсолютному ($F(1,30) = 4,14$; $p > 0,05$). Что касается ручных крыс, то у них, в отличие от контрольной группы без препарата, произошло достоверное повышение иммунной реакции по относительному числу АОК ($F(1,39) = 13,72$; $p < 0,001$), хотя в абсолютном значении АОК наметилась лишь тенденция к стимуляции реакции ($F(1,41) = 0,87$; $p > 0,05$). Активация постсинаптических 5-НТ_{1А}-рецепторов введением 8-ОН-ДРАТ в дозе 1,0 мг/кг у крыс, селективированных на высокую агрессивность, привела к угнетению иммунного ответа как по относительному числу АОК ($F(1,28) = 12,36$; $p < 0,01$), так и по абсолютному ($F(1,33) = 6,85$; $p < 0,05$). В то же время, у низкоагрессивных крыс введение 8-ОН-ДРАТ в дозе 1,0 мг/кг, активирующей постсинаптические 5-НТ_{1А}-рецепторы, так же как и при введении агониста в низкой дозе, привело к нарастанию как относительного ($F(1,40) = 5,23$; $p < 0,05$), так и абсолютного ($F(1,42) = 34,09$; $p < 0,001$) количества АОК. По-видимому, снижение чувствительности постсинаптических 5-НТ_{1А}-рецепторов у этих крыс привело к тому, что доза препарата оказалась недостаточна для их активации. Только дальнейшее повышение дозы селективного агониста 5-НТ_{1А}-рецепторов 8-ОН-ДРАТ до 5,0 мг/кг оказало достоверное подавление иммунной реакции по относительному числу АОК ($F(1,40) = 5,24$; $p < 0,05$). Вместе с тем, абсолютные значения АОК всё ещё оставались на уровне значений при введении растворителя ($F(1,42) = 0,01$; $p > 0,05$). Селективная блокада 5-НТ_{1А}-рецепторов WAY-100635 в дозе 1,0 мг/кг не привела к статистически значимым изменениям относительного и абсолютного уровня АОК у высокоагрессивных крыс по сравнению с контрольными не получавшими препарата крысами, которые в отличие от низкоагрессивной линии характеризуются более высокой иммунной реактивностью. Что касается ручных крыс, то у них блокада 5-НТ_{1А}-рецепторов WAY-100635 вызвала повышение иммунной реакции как по относительному ($F(1,42) = 24,84$; $p < 0,01$), так и по абсолютному ($F(1,44) = 94,16$; $p < 0,01$) числу АОК по сравнению с их исходными значениями.

Заключение. Таким образом, установлена зависимость иммунологической реактивности от выраженности генетически детерминированного агрессивного поведения. Проявления высокой или низкой агрессивности сопряжены с изменениями функционального состояния пре- и постсинаптических 5-НТ_{1А}-рецепторов, которые обуславливают различие эффектов активации и блокады этого типа рецепторов на иммунный ответ. Данные могут представлять

интерес для выбора препаратов при лечении связанных с агрессией патологических состояний, если их действие направлено на активность 5-НТ_{1А}-рецепторов.

Список литературы

1. Petitto J.M. Behavioral genetics and immunity // Psychoneuroimmunology (3rd). — San Diego (Ca): Elsevier Academic Press / ed. Ader R. et al. — 2001. — Vol. 2. — P. 173–186.
2. Девойно Л.В., Идова Г.В., Альперина Е.Л. Психонейроиммуномодуляция: поведение и иммунитет. Роль «нейромедиаторной» установки мозга. — Новосибирск: Наука, 2009. — 167 с.
3. Plyusnina I.F. et al. Cross-fostering effects on weight, exploratory activity, acoustic startle reflex and corticosterone stress response in Norway gray rats selected for elimination and for enhancement of aggressiveness towards human // Behav. Genet. — 2009. — Vol. 39. — P. 202–212.

Эффекты антител к глутамату на развитие постстрессорных реакций у мышей C57Bl/6

Захарова И.А., Ветрилэ Л.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Ранее в экспериментальных исследованиях и в клинике была показана продукция аутоантител к нейромедиаторам при различных патологических состояниях [1, 2, 3]. Было установлено защитное действие антител к глутамату (ГЛУ-АТ) на развитие стрессорных реакций при комбинированном водно-иммерсионном стрессорном воздействии при разных способах их введения: активной иммунизации конъюгатом ГЛУ-БСА и системном введении за 1 час до стрессорного воздействия. Более выраженный эффект наблюдался при интраназальном введении ГЛУ-АТ в дозе 30 мкг/кг за 1 ч до стрессорного воздействия [4, 5].

Целью работы было изучить влияние ГЛУ-АТ на развитие стрессорных реакций при интраназальном введении сразу после стрессорного воздействия.

Эксперимент проводили на мышцах самцах линии C57Bl/6 массой 23–25 г. Мыши были распределены на следующие группы:

- 1 — контроль (интраназальное введение физраствора);
- 2 — стрессирование с введением физраствора;
- 3 — стрессирование с введением ГЛУ-АТ в дозе 30 мкг/кг;
- 4 — стрессирование с введением кроличьего гамма-глобулина.

ГЛУ-АТ получали путем гипериммунизации кроликов конъюгированным антигеном глутамат-БСА. ГЛУ-АТ в виде гамма-глобулиновой фракции выделяли из сывороток крови иммунизированных кроликов методом пересаживания сульфатом аммония, освобождали от примесей антител к белку-носителю методом аффинной хроматографии с использованием в качестве сорбента сефарозы 4В, активированной бромцианом и иммобилизованном на ней БСА. Выделенные и очищенные ГЛУ-АТ лиофилизировали и хранили при +4°C.

ГЛУ-АТ и гамма-глобулин вводили интраназально сразу же после комбинированной водно-иммерсионной стрессорной нагрузки [5]. Через час после стрессорного воздействия исследовали поведение мышей в тесте открытого поля (ОП) по суммарному показателю активности (горизонтальная, вертикальная и исследовательская).

Также оценивали состояние органов-маркеров стресса (надпочечники, тимус, слизистая желудка).

Стрессорная нагрузка у контрольных неиммунизированных мышей вызывала снижение общей поведенческой активности в ОП. Наблюдали увеличение латентного периода захода в центр поля и относительное снижение суммарного показателя активности (СПА) по сравнению с контрольной группой животных. В группе мышей, получавших ГЛУ-АТ в дозе 30 мкг/кг после стресса, наблюдали усиление стресс-реакции, что проявлялось в виде достоверного снижения СПА по сравнению с контрольными и стрессированными неиммунизированными мышами. Гамма-глобулин не оказал влияния на развитие стресс-реакции, поведенческая активность животных этой группы достоверно не отличалась от активности мышей группы стрессированного контроля.

У всех групп стрессированных мышей, в том числе получавших ГЛУ-АТ, наблюдали инволюцию тимуса, гипертрофию надпочечников и наличие язв слизистой желудка.

Таким образом, ГЛУ-АТ в дозе 30 мкг/кг, введенные сразу после стрессорного воздействия, усиливали стресс-реакцию по поведенческим показателям, приводили к более выраженной инволюции тимуса. Полученный эффект ГЛУ-АТ был прямо противоположен их защитному действию при интраназальном введении в той же дозе за 1 час до стрессорного воздействия. По видимому, выбранная доза ГЛУ-АТ (30 мкг/кг) является недостаточной для воздействия на активированную стрессом глутаматергическую систему, в связи с чем были проведены аналогичные опыты с дозами ГЛУ-АТ 150 и 250 мкг/кг. Было установлено, что ГЛУ-АТ в дозах 150 и 250 мкг/кг, введенные интраназально сразу после стрессорного воздействия, предотвращали снижение показателей двигательной активности мышей в ОП. СПА в группах мышей, получавших ГЛУ-АТ в дозах 150 и 250 мкг/кг, равнялся соответственно $90,6 \pm 6,8$ и $99,8 \pm 8,1$ и был достоверно выше, чем в группе стрессированного контроля ($64,5 \pm 11,3$) и не отличался от СПА в контрольной нестрессированной группе животных ($109,3 \pm 5,2$).

Комбинированный иммобилизационный стресс приводил к эрозивно-язвенному поражению слизистой желудка. В группе стрессированного контроля язвы были обнаружены у 72,7% мышей тяжестью в $2,9 \pm 0,1$ балла. Частота обнаружения эрозивно-язвенного поражения слизистой желудка в группе мышей, получавших интраназально ГЛУ-АТ в дозе 150 мкг/кг, составляла 66,7% ($2,7 \pm 0,2$ балла). А в группе мышей, получавших ГЛУ-АТ в дозе 250 мкг/кг, процент животных с дефектами слизистой желудка снизился в 2 раза и составил 34,6%, а их тяжесть была оценена в $1,3 \pm 0,2$ балла ($p = 0,002$). В контрольной группе мышей дефектов слизистой желудка не обнаруживали.

Таким образом, ГЛУ-АТ в дозе 30 мкг/кг оказались неэффективными при их введении сразу после стрессорного воздействия. ГЛУ-АТ в дозах 150 мкг/кг и 250 мкг/кг снижали выраженность стрессорных реакций при комбинированном иммобилизационном стрессе, т.е. проявляли защитный эффект. При этом он был наиболее выражен при введении ГЛУ-АТ в дозе 250 мкг/кг.

Список литературы

1. Ветрилэ Л.А., Евсеев В.А., Умрюхин А.Е., Кравцов А.Н., Сотников С.В., Захарова И.А. Аутоантитела к нейромедиаторам в механизмах стрессорных реакций у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2008. — Т. 146, №12. — С. 623—626.
2. Евсеев В.А., Ветрилэ Л.А., Смирнова В.С., Графова В.Н., Трекова Н.А., Кукушкин М.Л. Аутоантитела к глутамату, ГАМК, норадреналину в механизмах нейропатического болевого синдрома // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2008. — Т. 145, №5. — С. 521—524.

3. Евсеев В.А., Ветрилэ С.Т., Швец В.В., Ветрилэ Л.А., Крупаткин А.И., Соколова Т.В., Захарова И.А. Аутоантитела к нейромедиаторам у больных с хроническим болевым синдромом при остеохондрозе поясничного отдела позвоночника // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. — 2007, №4. — С. 15—18.

4. Евсеев В.А., Захарова И.А., Ветрилэ Л.А. Стресспротективное и стресспотенцирующее действие антител к глутамату и γ -аминомасляной кислоте при интраназальном введении мышам C57Bl/6 // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 148, №7. — С. 18—22.
5. Захарова И.А., Ветрилэ Л.А., Евсеев В.А. Влияние антител к глутамату и гамма-аминомасляной кислоте на развитие стрессорных реакций у мышей C57Bl/6 // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 2009. — Т. 147, №3. — С. 272—275.

Активность лейкоцитарной эластазы и дипептидилпептидазы-4 в сыворотке крови новорожденных детей с церебральной ишемией I—II степени

Зозуля С.А.³, Яковлева А.А.¹, Кузнецова Ю.А.¹,
Соколов О.Ю.³, Колясникова К.Н.², Золотов Н.Н.²,
Кост Н.В.³, Михеева И.Г.¹

¹ — ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва; Россия

² — ФГБУ НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Москва; Россия

³ — ФГБУ Научный центр психического здоровья РАМН, Москва, Россия

В настоящее время гипоксия рассматривается как основной патогенетический фактор повреждения нервной системы плода и новорожденного. Хроническое влияние гипоксии во время беременности является одним из факторов развития задержки внутриутробного развития плода. Известно, что ишемия запускает ряд нейро-воспалительных реакций в мозге, связанных с активацией микроглии, повышением синтеза провоспалительных факторов и молекул клеточной адгезии. Показано также повышение уровня провоспалительных цитокинов и концентрации белков острой фазы в крови пациентов с перинатальным поражением ЦНС. В связи с этим представляет большой интерес поиск валидных маркеров воспаления в крови, отражающих состояние нервной системы новорожденного с церебральной ишемией и наличие текущего патологического процесса в нервной системе.

Цель исследования: оценить возможное использование воспалительных ферментов — лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4, CD26) в качестве потенциальных маркеров церебральной ишемии у новорожденных детей.

Методы исследования. Обследовано 79 новорожденных детей с церебральной ишемией I—II степени, из них 39 доношенных и 40 недоношенных (32—37 недель гестации). 18 доношенных и 23 недоношенных ребенка родились с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР) вследствие хронической внутриутробной гипоксии плода. Контрольную группу составили 35 здоровых новорожденных детей.

Все дети с ЦИ родились от матерей с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, оценкой по шкале Апгар 6—7, через 5 минут — 7—8 баллов. Дети обследованы на 3—5 сутки жизни.

Активность ЛЭ в сыворотке крови определяли энзиматическим методом, активность ДПП-4 — флуоресцентным методом.

Результаты и обсуждение. У доношенных детей с ЦИ I—II степени активность ЛЭ в сыворотке крови составила 189 ± 25 нмоль/мин*мл, что достоверно превышало ($p < 0,05$) показатели у недоношенных (162 ± 25 нмоль/мин*мл) и здоровых детей (159 ± 24 нмоль/мин*мл). Активность ДПП-4 в этой группе составила $5,84 \pm 0,4$ нмоль/мин*мл, что также было достоверно выше ($p < 0,05$) значений у детей группы контроля ($3,17 \pm 0,1$ нмоль/мин*мл). При этом достоверных различий в активности ДПП-4 у доношенных и недоношенных детей, перенесших гипоксию, выявлено не было. Выявленное повышение активности ЛЭ и ДПП-4 у доношенных детей с ЦИ, по-видимому, связано с активацией их иммунной системы в ответ на гипоксию.

На фоне повышенной активности ЛЭ и ДПП-4 в общей группе доношенных, значения изучаемых ферментов у детей со ЗВУР (164 ± 36 и $4,8 \pm 0,5$ нмоль/мин*мл) были статистически значимо ниже, чем у детей без ЗВУР (191 ± 27 и $6,71 \pm 0,5$ нмоль/мин*мл соответственно) ($p < 0,05$).

В группе недоношенных детей с ЦИ I—II степени выявлено достоверное повышение ($p < 0,05$) активности ДПП-4 — $5,77 \pm 0,26$ нмоль/мин*мл, по сравнению со здоровыми детьми, а показатели активности ЛЭ составили 162 ± 25 нмоль/мин*мл и статистически значимо не отличались от значений в контрольной группе. Зависимости активности изучаемых ферментов от ЗВУР в этой группе детей выявлено не было.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что изучаемые показатели (ЛЭ и ДПП-4) могут быть использованы в качестве потенциальных воспалительных маркеров церебральной ишемии у новорожденных детей. Анализ взаимосвязей между данными показателями и особенностями клинической симптоматики у доношенных и недоношенных детей с церебральной ишемией требует дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Блинов Д.В. Объективные методы определения тяжести и прогноза перинатального гипоксически-ишемического поражения ЦНС // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2011. — Т. 2, №5. — С. 5—12.
2. Сафарова А.Ф., Кулиев Н.Д. Особенности нарушений иммунного статуса новорожденных детей с перинатальной гипоксией // Медицинские новости. — 2010. — 12. — С. 23—25.
3. Iadecola C., Alexander M. Cerebral ischemia and inflammation // Curr. Opin. Neurol. — 2001. — Vol. 14. — P. 89—94.
4. Liu F., McCullough L.D. Inflammation responses in hypoxic ischemic encephalopathy // Acta Pharmacol. Sinica. — 2013. — Vol. 34. — P. 1121—1130.

Действие бактериального эндотоксина на формирование глутаматных рецепторов в клетках мозга в раннем постнатальном онтогенезе

*Зубарева О.Е.¹, Вениаминова Е.А.¹,
Калемнев С.В.², Ротов А.Ю.¹, Фомалонт К.¹*

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург, Россия

² — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

Инфекционные заболевания и повышение уровня провоспалительных цитокинов, имевшие место в определен-

ные критические периоды раннего онтогенеза, могут приводить к долговременным нарушениям когнитивных функций (Vilbo et al., 2005; Зубарева и др., 2011; Трофимов и др., 2012). Предполагается, что одним из механизмов этих дисфункций может быть изменение формирования субъединичного состава NMDA глутаматных рецепторов и, как следствие, нарушение функциональной активности этих рецепторов. Подобные изменения в гиппокампе и коре больших полушарий мозга крыс после однократных внутрибрюшинных введений в раннем возрасте бактериального липополисахарида (ЛПС, эндотоксина) в высокой дозе 100 мкг/кг показаны Нагге с соавторами (2008).

Целью данной работы было изучение изменений экспрессии генов отдельных субъединиц NMDA рецепторов в клетках мозга крыс разного возраста после курсовых внутрибрюшинных введений в течение третьей недели жизни ЛПС в дозах 25 и 50 мкг/кг. Кроме использования более низких доз эндотоксина, важным отличием от работы Нагге с соавторами стало исследование продукции изучаемых мРНК отдельно в клетках вентрального и дорзального отделов гиппокампа, которые, как известно, выполняют разные функции (Fanselow, Dong, 2010 и др.), а также миндалины, играющей большую роль в механизмах эмоциональной памяти. Сроки введения ЛПС выбраны как критические для формирования NMDA рецепторов. В качестве контроля использовали интактных крыс и животных, которым вводили апирогенный физиологический раствор.

Эксперименты выполнены на крысах самцах Вистар. Проведено две серии экспериментов, в каждой из которых изучались ЛПС-индуцированные изменения продукции мРНК GluN1, GluN2A и GluN2B, GluN2C и GluN2D субъединиц. Исследования выполнялись методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием технологии TaqMan. Нормирование проводили по уровню экспрессии гена GAPDH.

Проведено две серии экспериментов. В первой ЛПС вводили в дозах 25 и 50 мкг/кг на 15, 18 и 21 сутки жизни. Оценку экспрессии изучаемых генов проводили через 2 часа и 3 месяца после последнего введения. Во второй серии экспериментов ЛПС вводили крысам на 14, 16 и 18-е сутки жизни в дозе 25 мкг/кг. В возрасте 22-29 суток жизни исследовали изменения исследовательского поведения и памяти в последовательно проведенных тестах: «Открытое поле», «Угашение исследовательского поведения при неоднократном помещении в открытое поле», «Водный лабиринт Морриса». Исследование уровня изучаемых мРНК в данной серии экспериментов проводили в возрасте 23-х суток жизни.

Результаты первой серии экспериментов. Введение ЛПС в дозах 25 и 50 мкг/кг на 15, 18 и 21 сутки жизни приводило к увеличению экспрессии генов отдельных субъединиц NMDA-рецепторов через 2 часа после последней инъекции. Достоверность различия между группами показана для GluN2A и GluN2B в дорзальном гиппокампе, GluN2C в вентральном гиппокампе и GluN2D в медиальной префронтальной коре. В возрасте 3 месяцев отмечалось усиление экспрессии всех изученных генов в дорзальном гиппокампе и увеличение продукции мРНК GluN1 и GluN2B в вентральном гиппокампе.

Результаты второй серии экспериментов. Показано, что крысы, которым на 14, 16 и 18-е сутки жизни вводили ЛПС в дозе 25 мкг/кг, на 22-29 сутки отличаются в «Открытом поле» нарушением исследовательского по-

ведения. В водном лабиринте Морриса опытные крысы хуже обучались в первый день тренировки. Реакция угашения ориентировочного поведения при неоднократном помещении в «Открытое поле» существенно не изменяется. Эти изменения поведения сопровождаются снижением на 23 сутки жизни продукции мРНК GluN1 в миндале, а также GluN2A, GluN2B, GluN2D в дорзальном гиппокампе и GluN2B в медиальной префронтальной коре.

В целом, проведенные исследования доказывают, что введение ЛПС в критический для формирования NMDA рецепторов период раннего постнатального онтогенеза вызывает краткосрочные и долговременные изменения продукции мРНК их отдельных субъединиц. Возможно, эти изменения носят волнообразный характер. Наибольшие отличия выявляются в клетках дорзального гиппокампа, незначительно меньшие — в клетках вентрального гиппокампа и медиальной префронтальной коры. Реакция клеток миндалины на введение ЛПС выражена слабее. Полученные результаты позволяют предположить связь ЛПС-индуцированных нарушений поведения с возможными перестройками субъединичного состава NMDA рецепторов. Результаты проведенного исследования могут быть положены в основу разработки новых подходов в лечении когнитивных дисфункций, связанных с действием инфекционных факторов на центральную нервную систему в раннем возрасте.

Список литературы

1. Bilbo S.D., Levkoff L.H., Mahoney J.H., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. Neonatal infection induces memory impairments following an immune challenge in adulthood // *Behav. Neurosci.* — 2005. — Vol. 119, №1, — P. 293–301.
2. Fanselow M.S., Dong H.W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? // *Neuron.* — 2010. — Vol. 65, №1. — P. 7–19.
3. Harre E.M., Galic M.A., Mouihate A., Noorbakhsh F., Pittman Q.J. Neonatal inflammation produces selective behavioural deficits and alters N-methyl-D-aspartate receptor subunit mRNA in the adult rat brain // *Eur. J. Neurosci.* — 2008. — Vol. 27, №3. — P. 644–653.
4. Зубарева О.Е., Шербакова К.П., Калемнев С.В., Симбирцев А.С., Клименко В.М. Нарушение условнорефлекторной деятельности взрослых крыс после введений интерлейкина-1 β в раннем постнатальном онтогенезе // *Журнал высшей нервной деятельности.* — 2011. — Т. 61, №6. — С. 736–741.
5. Трофимов А.Н., Зубарева О.Е., Симбирцев А.С., Клименко В.М. Влияние неонатальных повышений уровня интерлейкина-1 бета на формирование пространственной памяти взрослых крыс // *Российский физиологический журнал.* — 2012. — №6. — С. 782–792.

Развитие фармакологической стратегии клеточной терапии и разработка высокоселективных средств для регенеративной медицины на основе алкалоидов

*Зюжков Г.Н.¹, Жданов В.В.¹, Удут Е.В.¹,
Мирошниченко Л.А.¹, Суслов Н.И.¹, Чайковский А.В.¹,
Демкин В.П.², Симанина Е.В.¹, Дыгай А.М.¹*

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. Е.Д. Гольдберга» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г.Томск, Россия

² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г.Томск, Россия

«Фармакологическая стратегия регенеративной медицины», основанная на принципе подражания деятельности естественных регуляторных систем, представляет собой наиболее физиологичный и перспективный подход к решению задач регенеративной медицины [1–5]. В эксперименте показана принципиальная возможность терапии ряда заболеваний с помощью различных аналогов эндогенных регуляторов функций СК и наиболее высокая эффективность использования для этих целей иммобилизованной гиалуронидазы (имГД), терапевтические эффекты которой опосредованы деградацией гиалуроновой кислоты межклеточного матрикса и гликокаликса клеток-предшественников. В то же время участие данного гликозаминогликана в обеспечении гомеостаза всех органов и тканей, определяет, в ряде случаев, недостаточную избирательность действия имГД [1]. В связи с этим актуальной представляется разработка новых высокоселективных средств для регенеративной медицины. При этом перспективным может являться прямое воздействие веществ на рецепторы СК к раннедействующим и линейно-рестриктированным ростовым факторам и на элементы внутриклеточной сигнальной трансдукции. При этом использование для этих целей генноинженерных ростовых факторов, учитывая их плейотропность, полифункциональность и невозможность перорального приема не может рассматриваться в качестве оптимального пути решения задачи.

Цель: оценить перспективность разработки лекарственных средств для регенеративной медицины на основе алкалоидов.

Материалы и методы. Исследовались дитерпеновые алкалоиды: напеллин, зонгорин, гипаконитин, мезаконитин, Z77 и др. Экспериментальными моделями служили: кожная рана, цитостатическая миелосупрессия, постгипоксическая энцефалопатия, ишемическое нарушение мозгового кровообращения. Использовались гистологические, функциональные, культуральные, гематологические и др. методы исследования.

Результаты. Выявлены алкалоиды с различными видами регенеративной активности. Наиболее выраженные ранозаживляющие свойства обнаружены у напеллина, зонгорина и гипаконитина [4]; эритро- и гранулоцитопозстимулирующие — у зонгорина и напеллина соответственно; а церебропротекторные — у Z77. Установлено, что механизмами действия данных алкалоидов является их прямое воздействие на клетки-предшественники различных классов и повышение функциональной активности элементов микроокружения тканей. При этом развитие церебропротекторных эффектов Z77 связано с его взаимодействием с рецепторами к фактору роста фибробластов на нейральных стволовых клетках (НСК). В то же время в передаче стимулирующего сигнала прогениторным клеткам задействованы «резервные» внутриклеточные ИКК-, РКС₁-, РКВ-, РКА-зависимые направления NF- κ B и p38 MAPK-сигналинг, которые в реализации ростового потенциала СК в условиях оптимальной жизнедеятельности, а некоторые из них и при воздействии на НСК фактора роста фибробластов (РКВ, РКА, p38 MAPK), не участвуют [2, 3, 5].

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высокой перспективности разработки на основе алкалоидов селективных лекарственных средств, обладающих регенеративной активностью: гемостимуляторов избира-

тельного действия на основе напеллина и зонгорина и церебропротектора на основе Z77. Кроме того, полученные данные о возможности стимуляции функций СК путем прямого воздействия на ключевые звенья сигнального каскада указывают на принципиальную возможность разработки принципиально новой концепции решения задач регенеративной медицины — «Стратегии фармакологической регуляции внутриклеточной сигнальной трансдукции в прогениторных клетках».

Список литературы

1. Dygai A.M., Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V. et al. Specific Activity of Electron-Beam Synthesis Immobilized Hyaluronidase on G-CSF Induced Mobilization of Bone Marrow Progenitor Cells // *Stem Cell Reviews and Reports*. — 2013. — Vol. 9. — Issue 2. — P. 140–147.
2. Zyuz'kov G.N., Danilets M.G., Ligacheva A.A. et al. Role of NF- κ B-Dependent Signaling in the Realization of Growth Potential of Mesenchymal Progenitor Cells in Vitro // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. — 2013. — Vol. 155. — Issue 6. — P. 721–725.
3. Zyuz'kov G.N., Danilets M.G., Ligacheva A.A. et al. Participation of PI3K, MAPK ERK1/2, and p38 in the Realization of Growth Potential of Mesenchymal Precursor Cells under In Vitro Conditions // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. — 2014. — Vol. 156. — Issue 4. — P. 556–559.
4. Zyuz'kov G.N., Krapivin A.V., Nesterova Yu.V. et al. Mechanisms of Regenerative Effects of Baikal Aconite Diterpene Alkaloids // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. — 2012. — Vol. 153, №6. — P. 847–851.
5. Zyuz'kov G.N., Zhdanov V.V., Danilets M.G., e.a. Role of cAMP and IKK-2-Dependent Signaling in the Realization of Growth Potential of Mesenchymal Progenitor Cells // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. — 2013. — Vol. 156. — Issue 2. — P. 228–231.

Разработка методики выявления маркера стресса — стрессовых гранул в нейтрофилах при болезни Альцгеймера

Иванов П.А., Михайлова Н.М.

ФГБУ «Научный Центр Психического Здоровья» РАМН, Москва, Россия

Болезнь Альцгеймера (БА) в настоящее время является наиболее распространенным нейро-дегенеративным заболеванием, которым страдает около 13% людей старше 65 лет.

Установлено, что в ЦНС при БА происходит накопление нерастворимых полимеров бета-амилоида во внеклеточном пространстве, что сопровождается дегенерацией и гибелью нейронов. В последнее десятилетие было получено большое количество экспериментальных и клинических данных, свидетельствующих о вовлеченности воспаления в патогенез БА. Причем повышенный уровень медиаторов воспаления обнаруживается не только в ЦНС, но также и в плазме или сыворотке крови больных БА. Также существуют данные, что при БА происходят изменения в основном клеточном компоненте, опосредующем воспаление вне ЦНС — нейтрофилах; уменьшается доля клеток, содержащих мало секреторных гранул, также в нейтрофилах при БА увеличивается концентрация активных форм кислорода. Эти данные указывают, что при БА нейтрофилы (или, во всяком случае, их часть) находятся в состоянии клеточного стресса. И оценка уровня стресса может быть периферическим маркером для БА. Интегральным ответом клеток эукариот на стресс является формирование стрессовых гранул — скоплений мРНК,

мРНК-связывающих белков и некоторых компонентов аппарата трансляции.

Целью настоящей работы была разработка методики количественной оценки клеточного стресса нейтрофилов, основанной на измерении формирования стрессовых гранул.

Был разработан метод, основывающийся на измерении формирования стрессовых гранул. Эти скопления возникают в цитоплазме эукариотической клетки при неблагоприятных воздействиях и, возможно, являются адаптивным ответом клетки на стресс. В нейтрофилах иммунофлуоресцентным методом выявляли один из компонентов стрессовых гранул — белок eIF3a. Для количественной характеристики формирования стрессовых гранул оценивалась степень гомогенности распределения этого белка в цитоплазме. В качестве критерия гомогенности был выбран коэффициент варируемости распределения флуоресценции этого белка в цитоплазме. Для этого полученные изображения клеток анализировались с помощью программы ImageJ; для каждой клетки измерялась средняя яркость цитоплазмы и разброс. Коэффициент варируемости вычислялся как отношение разброса к среднему значению.

С помощью разработанного метода оценки степени стрессированности клеток были получены предварительные данные, что в нейтрофилах, выделенных из крови пациентов, страдающих БА, повышен уровень клеточного стресса.

Инtrateкальное введение антител к возбуждающему нейромедиатору глутамату уменьшает спонтанные приступы боли у крыс с невропатической болью

Иеоныкина С. И., Ветрилэ Л.А., Кукушкин М.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Иммунотерапия антителами к определенным антигенам является перспективным направлением в комплексном лечении неинфекционных заболеваний. В клинических и экспериментальных исследованиях показана эффективность антител к специфическим антигенам при терапии неврологических и онкологических заболеваний [1, 2, 3, 5]. В настоящее время имеются единичные работы, посвященные изучению иммунокоррекции болевого синдрома невропатического генеза. Центральная невропатическая боль, которая возникает при повреждении центральных звеньев соматосенсорной системы и для которой характерны спонтанные приступы боли и аллодиния, резистентна к лечению традиционными анальгетиками, поэтому поиск и разработка новых способов коррекции этого тяжелого неврологического расстройства является актуальной задачей.

Цель работы — изучение на модели центральной невропатической боли иммуномодулирующего эффекта антител к возбуждающему нейромедиатору глутамату.

Материал и методы. Работа выполнена на крысах-самцах линии Wistar массой 220–250 г в соответствии с этическими требованиями, предусмотренными Международной и Российской ассоциациями по изучению боли при проведении исследований на животных. Эффекты анти-

тел к глутамату изучали на модели центральной невропатической боли, которую вызывали у крыс путем нарушения ГАМКергического торможения в дорсальных рогах L4–L6 сегментов спинного мозга при введении антагониста ГАМК_A-рецепторов — натриевой соли пенициллина [4]. Оценку центральной невропатической боли у животных проводили по модифицированной методике, позволяющей учитывать аккумулятивные показатели механической аллодинии и спонтанных приступов боли. Антитела к нейромедиатору глутамату получали путем гипериммунизации кроликов конъюгированным антигеном глутамат–бычий сывороточный альбумин. Конъюгаты получали реакцией ковалентного связывания соответствующего гаптена с белком с помощью глутарового альдегида. Антитела в виде гаммаглобулиновых фракций выделяли из сыворотки крови методом переосаждения сульфатом аммония и очищали от АТ к белку. Аналогичным образом выделяли гаммаглобулиновую фракцию у интактных, неиммунизированных кроликов, которую использовали для контрольных животных. Влияние антител к глутамату у крыс с центральной невропатической боли исследовали при интратекальном (L4–L6) способе введения. Животные контрольных групп получали γ-глобулин либо физиологический раствор

Результаты. В результате проведенного экспериментального исследования показано, что Интратекальное введение антител к глутамату в дозе 300 мкг подавляло спонтанные приступы боли у крыс с центральной невропатической боли (на 15-й минуте $P = 0,009$ и на 30-й мин $P = 0,002$ после введения), т.е. антитела к возбуждающему нейромедиатору — глутамату оказывали болеутоляющее действие. Анальгетического влияния антител к глутамату на аллодинию у этих животных не было обнаружено. Интратекальное введение животным с центральной невропатической боли гамма-глобулина либо 0,9% NaCl не влияло на развитие спонтанных приступов и аллодинии.

Заключение. Антитела к глутамату оказывают антиноцицептивное влияние на невропатическую боль. Иммунокорректирующее обезболивающее влияние антител к глутамату может быть обусловлено снижением эффективности глутаматергических влияний на сенситизированные при невропатической боли ноцицептивные нейроны, что способствует уменьшению их активности и, как следствие, торможению болевых пароксизмов при центральной невропатической боли. В литературе имеются сообщения о том, что нейромодулирующие влияния антител могут опосредоваться как за счет изменения уровня нейромедиаторов, так и за счет изменения лигандсвязывающей активности соответствующих рецепторов. Ухудшение синаптической эффективности глутамата, наблюдаемое в нашем исследовании через 15–30 минут после аппликации соответствующих антител, скорее всего, обусловлено «нейтрализацией» (связыванием) антителами определенного количества нейромедиаторов. Данное предположение хорошо согласуется с отмеченным в настоящем исследовании фактом, демонстрирующим более эффективное подавление антителами к глутамату стимулозависимой боли (спонтанные приступы) по сравнению со стимулозависимой болью (аллодиния), что, по всей видимости, обусловлено частичной (неполной) нейтрализацией возбуждающей глутаматергической сигнализации. Ограничивая длительность глутаматного воздействия на постсинаптическую мембрану, антитела к глутамату способствуют устранению патологической боли и могут рассматриваться в качестве нового обезболивающего средства.

тамату способствуют устранению патологической боли и могут рассматриваться в качестве нового обезболивающего средства.

Список литературы

1. Давыдова Т.В., Фомина В.Г., Башарова Л.А. и др. Влияние антител к серотонину на болевую чувствительность у крыс с аллодинным артритом // Бюл. эксперим. биол. — 1997. — Т. 124, №9. — С. 292–295.
2. Евсеев В.А., Башарова Л.А., Ветрилэ Л.А. и др. Иммуноотерапия экспериментальной наркомании антителами к серотонину и дофамину // Бюл. эксперим. биол. — 1996. — Т. 122. — №8. — С. 189–192.
3. Игонькина С.И., Кукушкин М.Л., Ветрилэ Л.А. Влияние антител к тормозным и возбуждающим нейромедиаторам на развитие нейрогенной боли // Патогенез. — 2006. — Т. 4, №1. — С. 52–53.
4. Крыжановский Г.Н., Решетняк В.К., Кукушкин М.Л. и др. Патологические интеграции в системе болевой чувствительности при центральном болевом синдроме // Боль. — 2004. — №4. — С. 10–15.
5. Sorokin L.S., Otto M., Baldwin W.M. et al. Anti-GD2 with an FC point mutation reduces complement fixation and decreases antibody-induced allodynia // Pain. — 2010. — Vol. 149. — P. 135–142.

Антитела к тормозным нейромедиаторам антиноцицептивной системы усиливают невропатическую боль у крыс

Игонькина С.И., Ветрилэ Л.А., Кукушкин М.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Невропатическая боль — это боль, возникающая вследствие прямого повреждения или заболевания соматосенсорной системы [5]. В зависимости от локализации повреждения нервной системы невропатическая боль подразделяется на центральную и периферическую. Патофизиологической основой невропатических болевых синдромов являются нарушения механизмов генерации и проведения ноцицептивного сигнала в нервных волокнах и недостаточность антиноцицептивного контроля возбудимости ноцицептивных нейронов в структурах спинного и головного мозга [1–3]. Дефицит ГАМКергической, серотонинергической, норадреналинергической и дофаминергической медиации в антиноцицептивной системе приводит к развитию невропатической боли, резистентной к традиционным анальгетикам [3, 4]. Компенсация дефицита антиноцицептивного контроля лежит в основе обезболивающего эффекта при лечении пациентов с невропатической болью блокаторами обратного захвата норадреналина, серотонина, агонистами ГАМК рецепторов [3]. Вопрос о роли антител к нейромедиаторам антиноцицептивной системы в патогенезе невропатической боли остается открытым.

Цель исследования — изучение роли антител к тормозным нейромедиаторам антиноцицептивной системы — ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину в развитии невропатической боли. В задачи исследования входило выяснение возможности образования аутоантител к ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину у животных с невропатической болью и установление особенностей протекания невропатического болевого синдрома у животных, иммунизированных соответствующим конъюгированным антигеном нейромедиатор–белок.

Материал и методы. Работа выполнена на крысах линии Wistar массой 220—250 г в соответствии с этическими требованиями, предусмотренными Международной и Российской ассоциациями по изучению боли. В работе использовали модели периферической и центральной невропатической боли. Модель периферической невропатической боли создавали повреждением седалищного нерва. Для оценки невропатической боли использовали общепринятую 11-балльную шкалу степени аутономий. Для моделирования центральной невропатической боли использовали метод создания генератора патологически усиленного возбуждения в дорсальных рогах люмбального отдела спинного мозга [2]. Оценку центральной невропатической боли у животных проводили по модифицированной методике, используя аккумулятивный показатель аллодинии (АПА) и аккумулятивный показатель спонтанных приступов боли (АПБ). Аутоантитела к нейромедиаторам определяли в сыворотке крови животных с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) по ранее описанному методу. Для иммунизации животных использовали конъюгированные антигены серотонин—бычий сывороточный альбумин (БСА), норадреналин—БСА и дофамин—БСА, которые вводили по следующей схеме:

- 1-я инъекция — введение конъюгированного антигена (2 мг на кг массы) с полным адьювантом Фрейнда подкожно за 2 недели до операции на нерве;
- 2-я — внутрибрюшинная, через 2 недели после первой иммунизации в дозе 5 мг на кг массы без адьюванта;
- 3-я — внутрибрюшинная, через 4 недели после первой иммунизации в дозе 10 мг на кг массы без адьюванта;
- 4-я — реиммунизация через 1 месяца после 3-й инъекции в дозе 15 мг на кг массы без адьюванта. Животным контрольных групп вводили 0,9% NaCl или БСА.

Результаты. Как показали опыты, аутоантитела ко всем исследуемым нейромедиаторам выявлены в большинстве случаев. Аутоантитела к ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину были зарегистрированы на 14-е сутки после повреждения нерва соответственно в 67%, 77%, 88% и 73% случаев и на 28-е сутки в 17%, 74%, 90% и 60% случаев, при этом показатель уровня аутоантител к ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину равнялся на 14 сутки $1,45 \pm 0,06$; $1,87 \pm 0,18$; $2, \pm 0,17$; $1,56 \pm 0,09$ усл. ед. и на 28 сутки $1,55 \pm 0,02$; $1,72 \pm 0,11$; $1,85 \pm 0,11$; $1,57 \pm 0,1$ усл. ед. У интактных крыс антитела к исследуемым нейромедиаторам не были выявлены. Согласно полученным данным, иммунизация животных соответствующим конъюгированным антигеном нейромедиатор — БСА усиливала невропатический болевой синдром. В группе животных, иммунизированных конъюгатом серотонин—БСА, частота возникновения аутономий составила 100%. В группе животных, иммунизированных конъюгатом норадреналин—БСА и конъюгатом дофамин—БСА, аутономии обнаружены у 90% животных. В контрольных группах, в которых животные получали физиологический раствор или БСА аутономии были соответственно выявлены лишь в 55% и 45% случаев. Следует отметить, что в контрольных группах преобладали животные с болевым синдромом в 1—2 балла, среди иммунизированных конъюгатом дофамин—БСА животных преобладали крысы со средней выраженностью (3—6 баллов) аутономии, среди животных, иммунизированных конъюгатом серотонин—БСА и но-

радреналин—БСА, преобладали крысы со средней (3—6 баллов) и интенсивной (7—11 балла) аутономией. Существенный интерес представляет тот факт, что у крыс с болевым невропатическим синдромом, развивающимся на фоне индукции аутоантител к серотонину, норадреналину и дофамину, в поздней, 4-й фазе болезни, вместо выздоровления, как у неиммунизированных крыс, возникало значительное обострение болевого синдрома, выражавшееся в увеличении числа поздних аутономий. В эти сроки наблюдали максимальное возрастание титра антител к нейромедиаторам: серотонину, норадреналину и дофамину. Интракальное введение в дорсальные рога люмбального отдела (L4—L6) спинного мозга животным антител к ГАМК (300 мкг) приводило к появлению у подопытных животных механической аллодинии, характерного симптома центральной невропатической боли. Начальные проявления аллодинии возникали через 10—15 минут (АПА = $21,1 \pm 4,3$). К 30-й минуте после интракального введения антител к ГАМК интенсивность и площадь аллодинии достигала максимальных значений (АПА = $34,6 \pm 17,1$), через 60 минут регистрировали ее минимальные значения (АПА = $9,2 \pm 1,6$). Спонтанные приступы боли при введении антител к ГАМК не возникали. У контрольных животных, которым интракально вводили γ -глобулин, ни аллодинии, ни спонтанных приступов не наблюдали.

Заключение. Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что развитие невропатического болевого синдрома сопровождается образованием аутоантител к нейромедиаторам антиноцицептивной системы — ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину. Повышенная индукция аутоантител к тормозным нейромедиаторам антиноцицептивной системы усиливает выраженность и продолжительность невропатической боли, способствуя ее хронизации.

Список литературы

1. Игонькина С.И. Патогенетические механизмы и коррекция центральной невропатической боли (экспериментальное исследование): Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.биол.н. — М.: 2009. — 48 с.
2. Крыжановский Г.Н., Репетняк В.К., Кукушкин М.Л. и др. Патологические интеграции в системе болевой чувствительности при центральном болевом синдроме // Боль. — 2004. — №4. — С. 10—15.
3. Кукушкин М.Л., Табеева Г.Р., Подчуфарова Е.В. Болевой синдром: патофизиология, клиника, лечение / Под ред. Н.Н. Яхно. — М.: ИМА ПРЕСС, 2011. — 71 с.
4. Кукушкин М.Л., Игонькина С.И. Значение ГАМК в патогенезе болевых синдромов. // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2014. — №1 — С. 68—78.
5. Treede R.D., Jensen T.S., Campbell G.N. et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research diagnostic purposes. // Neurology. — 2008. — Vol. 70. — P. 3680—3685.

Реактивность невралной моторной проводимости у детей в норме и при воспалительной полиневропатии

Климкин А.В., Войтенков В.Б., Скрипченко Н.В.

ФГБУ Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

Среди инфекционных заболеваний периферической нервной системы особую тяжесть течения имеет синдром Гийена—Барре (СГБ), характеризующийся разрушением миелина корешков и периферических нервов

в результате инфекционно-аллергического и аутоиммунного воспаления.

Цель исследования — оценить влияние и диагностические возможности использования кратковременной локальной ишемии периферических нервов предплечья у детей при СГБ.

Материалы и методы. Проведено ЭНМГ исследование с оценкой СПИ по моторным волокнам локтевого нерва у 26 детей группы сравнения в возрасте 6—16 лет и 11 детей с СГБ в анамнезе в возрасте 7—17 лет. Кратковременная ишемия конечности создавалась с помощью манжеты сфигмоманометра. Манжета, шириной 14 см, накладывалась на предплечье. Изучались показатели СПИ в разные временные срезы проведения компрессионной пробы. Степень изменения СПИ на локальную ишемию от фонового значения, выраженная в процентах, характеризовала РНП на кратковременную ишемию: $\text{РНП} = \text{СПИ минута ишемии} \times 100 / \text{СПИ фоновая} - 100$ (%)

Результаты. РНП на 10 минуте локальной ишемии на уровне предплечья в группе детей с СГБ в анамнезе на 50% достоверно меньше ($p < 0,00001$), чем в группе сравнения. Дети в острый и подострый период СГБ (до 2 месяцев) имели достоверно меньшую РНП $3,8 \pm 0,5\%$, чем дети с СГБ через 6 месяцев после клинической манифестации, РНП которых составляла $5,5 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$). Кратковременная локальная ишемия локтевого нерва на предплечье у здоровых детей по данным литературы имеет аналогичную РНП на 10 минуте ишемии как у здоровых взрослых исследуемых: у детей — $8,5 \pm 1,9\%$, у взрослых — $8,7\%$

Выводы. У детей с СГБ в анамнезе двигательные аксоны периферических нервов резистентны к кратковременной локальной ишемии конечности. РНП на ишемию у детей с СГБ в острый период имеет наименьшее значение $3,8 \pm 0,5\%$ и в процессе саногенеза имеет тенденцию к нормализации ($p < 0,05$). РНП при СГБ требует дальнейшего изучения, в том числе с целью разработки дополнительного критерия диагностики СГБ.

Роль антител к глутамату во внутри- и межструктурном паттернах экспрессии генов программируемой гибели в церебральных структурах при экспериментальной болезни Альцгеймера

Колобов В.В., Давыдова Т.В., Захарова И.А.,
Ветрилэ Л.А., Фомина В.Г.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Эпидемиологические исследования показывают, что масштаб распространения болезни Альцгеймера (БА) колоссальный, в то время как варианты лечения ограничены краткосрочной симптоматической помощью. Последние достижения нейробиологии привели к разработке нескольких возможных подходов модификации болезни на основе иммунотерапии, прежде всего, с применением пассивной вакцинации внутривенными иммуноглобулинами, эффективность которых в той или иной мере показана на различных доклинических моделях БА [1].

Согласно полученным ранее на *in vivo* модели БА, основанной на введении нейротоксического фрагмента

$A\beta_{25-35}$ в ядра Мейнерта, интраназально введенные крысам *Wistar* антитела к глутамату (АТ-Глу) оказывают нейрорепрессивное влияние на экспрессию генов *Aifm1* и *Casp3* в гиппокампе и генов *Aifm1*, *Casp3* и *Parp1* в префронтальной коре, препятствуя тем самым развитию каскада программ гибели нервных клеток [2].

Целью настоящей работы было установление внутри- и межструктурных взаимосвязей в профиле транскрипционной активности генов программируемой гибели (*Aifm1*, *Bax*, *Casp3*, *Dffp* и *Parp1*) в префронтальной коре и гиппокампе на модели БА у грызунов на фоне интраназального введения АТ-Глу и без него.

Материалы и методы. В эксперименте, проведенном с соблюдением биоэтической директивы 2010/63/EU от 22.09.2010 года, животные были разделены на 5 групп ($n = 6$ в каждой): интактные животные (И); ложнооперированные животные (ЛО); животные с двусторонним введением фрагмента белка $A\beta_{25-35}$, которым через 1 ч после операции вводили интраназально по 10 мкл дистиллированной воды ($A\beta_{25-35} + H_2O$); животные, которым по той же схеме интраназально вводили водный раствор АТ-Глу от иммунизированных кроликов в дозе 300 мкг/кг ($A\beta_{25-35} + \text{АТ-Глу}$); животные, которым по той же схеме интраназально вводили водный раствор кроличьего γ -глобулина от интактных кроликов в дозе 300 мкг/кг ($A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин). Экспрессию генов оценивали в образцах префронтальной коры и гиппокампа методом ПЦР в реальном времени на 3 сутки после операции. Математическую обработку относительной экспрессии генов проводили методами непараметрической статистики ($p < 0,05$) с применением M_e (Q1;Q3) и рангового коэффициента Спирмена (референсным геном был *Actb*).

Результаты. В образцах префронтальной коры выявлены следующие корреляции: (ЛО) — r_s (*Bax/Casp3*) = 0,93; ($A\beta_{25-35} + H_2O$) — достоверных корреляций не выявлено; ($A\beta_{25-35} + \text{АТ-Глу}$) — r_s (*Dffp/Parp1*) = 0,83 и r_s (*Bax/Aifm1*) = 0,828; ($A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин) — достоверных корреляций не выявлено.

В образцах гиппокампа выявлены следующие корреляции: (ЛО) и ($A\beta_{25-35} + H_2O$) — достоверных корреляций не выявлено; ($A\beta_{25-35} + \text{АТ-Глу}$) — r_s (*Bax/Parp1*) = 0,819; ($A\beta_{25-35} + \gamma$ -глобулин) — r_s (*Bax/Aifm1*) = -0,82.

Межструктурные взаимосвязи установлены только для гена *Bax* в группе (ЛО), где $r_s = 0,828$, и в группе ($A\beta_{25-35} + H_2O$), где $r_s = 0,811$.

Данные по (И) приведены к условной 1, относительно которой рассчитывалась экспрессия в опытных группах, поэтому установить взаимосвязи внутри самой (И) не возможно примененным подходом.

Заключение. Выявленный профиль внутри- и межструктурных взаимосвязей в разных церебральных структурах крыс свидетельствует о специфически согласованном изменении работы генетического аппарата в условиях нормы и экспериментальной нейродегенерации, на течение которой существенное и разнонаправленное влияние оказывают внешние агенты (АТ-Глу и γ -глобулин).

Молекулярный механизм действия АТ-Глу на экспрессию генов *Aifm1*, *Bax*, *Casp3*, *Dffp* и *Parp1* остаётся в настоящее время малоизученным, однако можно предположить, что одним из наиболее вероятных путей участия АТ-Глу в снижении гибели нервных клеток префронтальной коры и гиппокампа при введении нейротоксина $A\beta_{25-35}$ в ядра

Мейнерта является опосредованное их влияние на уровень глутамата и активность NMDA-рецепторов.

Список литературы

1. Counts S.E., Lahiri D.K. Editorial: Overview of immunotherapy in Alzheimer's disease (AD) and mechanisms of IVIG neuroprotection in preclinical models of AD // *Curr. Alzheimer Res.* — 2014. — Vol. 11, №7. — P. 623—625.
2. Kolobov V.V., Davydova T.V., Fomina V.G. Protective action of glutamate antibodies on increased expression of genes of programmed death of rat brain cells induced by injection of a β -amyloid fragment (25-35) // *Biology Bulletin.* — 2014. — Vol. 41, №2. — P. 118—125.

Влияние антител к глутамату и ГАМК на острую генерализованную, хроническую и фокальную эпилептическую активность

Кузнецова Л.В., Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Согласно современным представлениям об эпилептогенезе, иммунным процессам отводится особая роль в дебюте заболевания, стадии его доклинического и клинического течения. Исследования в области иммунологии, нейроиммунологии и нейроиммунопатологии значительно расширили представления о роли нейроиммунных процессов в патогенезе эпилепсии. Ранее нами были получены данные о нейромодулирующем действии антител к глутамату на острые генерализованные судороги при активной иммунизации конъюгатом глутамата с бычьим сывороточным альбумином мышей C57Bl/6. Показано, что активная иммунизация конъюгатом глутамата с бычьим сывороточным альбумином оказывает противосудорожное действие, вызывая повышение порогов клонических судорог и тонической фазы судорог с летальным исходом, а также увеличивая латентный период появления указанных судорог.

Целью настоящего исследования было изучение влияния антител к глутамату и ГАМК на острые генерализованные судороги, хроническую и фокальную эпилептическую активность при разных способах их введения (внутрибрюшинный и интраназальный). Антитела к глутамату и ГАМК получали путем гипериммунизации кроликов породы Шиншилла конъюгированным антигеном глутамата с бычьим сывороточным альбумином, синтезированным с использованием бифункционального реагента — глутарового альдегида.

Показано, что предварительное за 1,5 ч до инъекции конвульсанта пентилентетразола внутрибрюшинное введение антител к глутамату в дозах 10, 25 и 50 мг/кг оказывает противосудорожное действие на острую генерализованную эпилептическую активность, вызывая повышение порогов клонических судорог и тонической фазы судорог с летальным исходом, а также увеличивая латентный период их появления у мышей C57Bl/6. Наиболее выраженный эффект был выявлен при введении антител к глутамату в дозе 25 мг/кг, которую и применяли в наших дальнейших исследованиях. Противосудорожное действие антител сохранялось в течение 24 ч после их однократного внутрибрюшинного введения. На более поздних сроках — через 30 ч после их введения — антитела к глутамату не оказывают влияния на пороги судорожной реакции. Уста-

новлено, что антитела к глутамату оказывают противосудорожное действие на острую генерализованную эпилептическую активность и у мышей C57Bl/6 с повышенной в результате киндинга судорожной активностью мозга.

Интраназальное введение антител к глутамату в дозах 100, 300 и 500 мкг/кг также оказывает противосудорожное действие на острые генерализованные судороги у мышей C57Bl/6. Противосудорожный эффект был наиболее выражен при дозах 300 и 500 мкг/кг. Анализ и сопоставление данных проведенных нами исследований свидетельствует о несомненном преимуществе интраназального способа введения АТ. Так, интраназальное введение антител к глутамату вызывало более значительное (в 2 раза) повышение порога клонических судорог по сравнению с другими способами их введения и эффективная доза антител к глутамату была в 83 раза меньше. Показано, что интраназальное введение антител к глутамату оказывает противосудорожное действие и на модели фокальной эпилептической активности, вызванной аппликацией фильтровальной бумаги, смоченной раствором натриевой соли бензилпенициллина в концентрации 30 000 МЕ/мл на область сенсомоторной коры мозга ненаркотизированных свободно передвигающихся крыс самцах линии Вистар массой 200—220 г с регистрацией электрокортикограммы. Введение антител к глутамату в дозе 300 мкг/кг приводило к двукратному увеличению латентного периода появления первых интериктальных разрядов по сравнению с контрольными животными с введением интактного (неиммунизированного) γ -глобулина. Латентный период появления первых иктальных разрядов в группе животных с введением антител к глутамату увеличивался в 3—5 раз, а частота их генерирования уменьшалась в 7—6 раз по сравнению с группами животных с введением интактного γ -глобулина и физиологического раствора. Продолжительность существования очагов эпилептической активности была меньше по сравнению с животными с введением физиологического раствора. Следует отметить, что в данных условиях опыта наиболее выраженным противосудорожным эффектом являлось ослабление частоты генерирования иктальных разрядов.

Антитела к ГАМК при их однократном внутрибрюшинном введении оказывают проконвульсивное действие на острую генерализованную эпилептическую активность, вызывая уменьшение порогов клонических судорог и тонической фазы судорог с летальным исходом, а также уменьшая латентный период появления указанных судорог у мышей C57Bl/6. В процессе хронической эпилептизации мозга мышей C57Bl/6 — пентилентетразолового киндинга — антитела к ГАМК при их однократном внутрибрюшинном введении также оказывают проконвульсивное действие, вызывая увеличение количества животных с судорогами и тяжести судорог. Антитела к глутамату в аналогичных условиях опыта не влияли на развитие хронической эпилептизации мозга мышей.

Таким образом, антитела к возбуждающим и тормозным нейротрансмиттерам глутамату и ГАМК, играющих ключевую роль в патогенезе эпилептической активности, оказывают нейромодулирующее действие, изменяя активность патологической эпилептической системы.

Список литературы

1. Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю., Трекова Н.А., Кузнецова Л.В., В.А.Евсеев. Повышение порогов судорожной реакции к конвульсанту коразолу после активной имму-

низации конъюгатом глутамат-БСА мышей разных генетических линий // Бюл. exper. биол. — 2003. — Т. 136, №9. — С. 287—289.

2. Евсеев В.А., Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю., Кузнецова Л.В., Трекова Н.А. Антитела к глутамату при системном введении повышают пороги судорожной реакции к пентилентетразолу // Бюл. exper. биол. — 2005. — Т. 140, №9. — С. 276—278.

3. Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Трекова Н.А. Влияние системного введения антител к глутамату на судорожную реакцию мышей C57Bl/6, подвергшихся пентилентетразоловому киндингу // Бюл. exper. биол. — 2007. — Т. 143, №6. — С. 611—613.

4. Ветрилэ Л.А., Карпова М.Н., Трекова Н.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Евсеев В.А. Иммунобиологическая специфичность антител к глутамату и γ -аминомасляной кислоте // Бюл. exper. биол. — 2007. — Т. 143, №5. — С. 572—575.

5. Кузнецова Л.В., Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю., Трекова Н.А. Влияние системного введения антител к глутамату на острую судорожную реакцию мышей C57Bl/6 // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2009. — №1. — С. 33—35.

12. Ветрилэ Л.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Карпова М.Н. Аутоантитела к глутамату, ГАМК, серотонину и дофамину в динамике развития хронической эпилептизации мозга мышей C57Bl/6 // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2010. — №2. — С. 11—14.

6. Кузнецова Л.В., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю., Карпова М.Н. Влияние антител к глутамату на судорожную реакцию мышей C57Bl/6 при хроническом эпилептогенезе // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 2011. — №3. — С. 21—24.

7. Ветрилэ Л.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю., Карпова М.Н. Аутоантитела к нейромедиаторам в динамике развития хронической эпилептизации мозга мышей C57Bl/6 // Нейроиммунология. — 2011. — Т. 11, №3—4. — С. 44—45.

8. Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Кузнецова Л.В., Клишина Н.Ю. Повышение порогов судорожной реакции после активной иммунизации конъюгатом глутамат-БСА мышей и при системном введении антител к глутамату // Патогенез. — 2011. — №1. — С. 21—26.

9. Карпова М.Н., Кузнецова Л.В., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю. Повышение порогов судорожной реакции после интраназального введения антител у мышей C57Bl/6 // Бюл. exper. биол. и мед. — 2013. — Т. 155, №3. — С. 282—285.

10. Кузнецова Л.В., Карпова М.Н., Ветрилэ Л.А., Клишина Н.Ю. Влияние антител к глутамату на фокальную пенициллин-индуцированную эпилептическую активность // Бюл. exper. биол. и мед. — 2013. — Т. 155, №5. — С. 555—558.

Динамика содержания естественных антител к эндогенным регуляторам боли при хронической дорсалгии

Левашова А.И.¹, Морозова В.С.¹, Польшаяная О.Ю.¹, Петровиченко С.Н.¹, Мягкова М.А.¹, Мосейкин И.А.²

¹ — Институт физиологически активных веществ РАН, 142432, Черноголовка, Московская обл., Россия

² — Российская медицинская академия последипломного образования, кафедра рефлексологии и мануальной терапии, 123995, ул. Баррикадная, 2/1 Москва, Россия

Боли в спине занимают ведущее место по времени нетрудоспособности среди работающего населения. До 80% людей в течение жизни испытывают боли в пояснично-крестцовой области. У 17% пациентов болезнь переходит в хроническую форму, а у 11% сопровождается социальной дезадаптацией из-за болевого синдрома.

Важная роль в поддержании состояния хронической боли принадлежит регуляторам иммунной природы. В частности, болевой синдром индуцирует изменение содержания в кровотоке естественных антител (е-Ат), специфичных к биорегуляторам болевого сигнала, которые

изначально присутствуют на нормальном уровне в организме здоровых людей [1].

Ранее нами было установлено, что уровни е-Ат к некоторым эндогенным биорегуляторам болевого синдрома, а именно пептидам β -эндорфину, орфанину и ангиотензину и биогенным аминам серотонину, дофамину и гистамину достоверно повышены у пациентов, страдающих хронической люмбалгией и люмбоишалгией [1].

Цель. В данной работе мы исследовали динамику содержания этих антител в период обострения хронической дорсалгии, что включало также выявление возможных гендерных особенностей динамики уровней исследуемых е-Ат и возможных взаимосвязей между выраженностью боли и иммунохимическими показателями.

В ходе работы определяли уровни данных е-Ат методом ИФА и выраженность болевого синдрома по визуальной-аналоговой шкале в 1, 10, 21 и 31 дни обследования. На основании этих данных были построены общие и индивидуальные профили е-Ат, соответствующие каждому этапу и рассчитаны изменения показателей уровней е-Ат и выраженности боли между этапами. Все исследования проводили с учетом гендерного фактора.

Методы. Обследовано 178 пациентов из них 105 женщин и 73 мужчины в возрасте от 16 до 72 лет (средний возраст $46,5 \pm 11,7$ года), страдающих хронической люмбалгией и люмбоишалгией. Контрольная группа состояла из 36 здоровых людей (17 женщин и 19 мужчин), возраст от 22 до 58 лет (средний возраст $38 + 9$ лет). На основании данных ИФА были рассчитаны процентные распределения пациентов по четырем группам: с пониженным, нормальным, повышенным и высоким уровнем соответствующих антител профили е-Ат и построены профили е-Ат для каждого этапа обследования.

Результаты.

Группа женщин. Обнаружено снижение числа пациентов с высоким уровнем е-Ат к β -эндорфину, дофамину, серотонину и гистамину. Также у тех пациенток, у которых уровни е-Ат были понижены в начале исследования, эти показатели возвращаются к норме к концу лечения.

Группа мужчин. Сравнение групп пациентов-мужчин с высокими уровнями различных е-Ат показало, что высокие показатели наблюдались для е-Ат к эндогенным опиатам (17—41%) и гистамину (40%), аналогично распределению у женщин в группах высоких уровней е-Ат. Однако в сравнении с абсолютными показателями для женщин они ниже. У большинства мужчин преобладают не высокие, а повышенные уровни е-Ат, что, по-видимому, связано с менее выраженной недостаточностью антиноцицептивной системы. Эти данные коррелируют с динамикой регресса болевого синдрома. Так, у мужчин интенсивность боли к 10-му дню уменьшилась на 32%, что достоверно ниже ($p = 0,017$), чем аналогичный показатель у женщин (22%).

Исследование изменения содержания в сыворотке крови исследуемых е-Ат показало, что у большинства женщин и мужчин через 10, 21 и 31 день уровни антител к эндогенным биорегуляторам достоверно не изменились. У женщин наибольшая амплитуда колебаний зафиксирована для е-Ат к β -эндорфину, они изменились у трети пациенток (34%), из них у 13% уровень е-Ат к β -эндорфину понизился, а у 23% — повысился. Уровни е-Ат к орфанину понизились у 4%, а повысились у 6% женщин, эти показатели для е-Ат к дофамину составили 8% и 11%, е-Ат к серотонину — 13% и 17%, е-Ат к гистамину — 20% и

11%, е-Ат к ангиотензину — 11% и 20% соответственно. Таким образом, можно отметить тенденцию к повышению уровней е-Ат к к β-эндорфину и ангиотензину и тенденцию к понижению уровней е-Ат к гистамину.

У мужчин, в целом, индивидуальные уровни е-Ат снизились на 5—10% больше, чем у женщин. Уровни е-Ат к опиатам мужчин снизились на 12—18%, что на 5—8% больше, чем у женщин, уровни е-Ат к дофамину снизились на 17,5%, что 10% больше по сравнению с женщинами. Уровни е-Ат к серотонину снизились на 13,2% как у мужчин, так и у женщин. Однако содержание е-Ат к гистамину снизилось больше у женщин (на 10%).

Таким образом, наблюдается тенденция к возвращению уровней е-Ат к норме, у мужчин этот процесс происходит несколько быстрее.

Заключение. В результате исследования динамики содержания е-Ат к эндогенным биорегуляторам у больных с хронической дорсалгией установлено, что наиболее выраженный иммунный ответ на каждом этапе исследования наблюдался в отношении е-Ат к эндогенным опиатам — орфанину и β-эндорфину, причем более высокие показатели выявлены у женщин. Сравнение уровней боли и иммунологических показателей показало, что на фоне достоверного снижения интенсивности БС значимого изменения уровней е-Ат не выявлено. По всей видимости, отсутствие изменений содержания антител связано с долговременным характером развертывания иммунных реакций. В связи с этим необходимо более длительное наблюдение за пациентами с хронической болью.

Список литературы

1. Левашова А.И., Морозова В.С., Польшьяная О.Ю., Петроченко С.Н., Келина Н.Ю., Мягкова М.А., Мосейкин И.А. Сравнительный анализ интенсивности болевого синдрома и иммунохимических показателей — уровней естественных антител у больных хронической дорсалгией // Биологические Мембраны. — 2014. — Т. 31, №3. — С. 1—8.

Иммуномодулирующие свойства копаксона и его терапевтическая эффективность при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите изменены у крыс со сниженной продукцией нейропептида галанина

Людько В.И., Абдурасулова И.Н.,
Мацулевич А.В., Клименко В.М.

ФГБУ Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Копаксон (глатирамера ацетат) относится к группе иммуномодулирующих препаратов и используется в терапии рассеянного склероза для предупреждения прогрессирования заболевания. Несмотря на более чем 10-летний успешный клинический опыт применения, поиск прогностических маркеров — предикторов эффективности лечения остается чрезвычайно актуальным, так как снижение частоты обострений и замедление темпов нарастания неврологического дефицита наблюдается лишь у 60—70% пациентов. Индивидуальный ответ на терапию копаксоном, в частности, может определяться наличием полиморфизмов в генах белков и пептидов, связанных с регуляцией иммунного ответа, а также вовлеченных в процессы нейровоспаления и репарации при рассеянном склерозе. Одним из таких вероятных генов-кандидатов может быть нейропептид галанин, экспрессия которого подвержена значительным изменени-

ям в ответ на повреждение нервной ткани травматического, ишемического и воспалительного генеза (3; 4).

Целью работы была сравнительная оценка эффективности копаксона на модели экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) у крыс Вистар — носителей аллельных вариантов гена галанина с различным уровнем транскрипционной активности. Существование в популяции крыс Вистар двух вариантов гена галанина, отличающихся тройной нуклеотидной заменой в промоторной области (ACT и GTG аллели), было обнаружено нами ранее (2).

Методы. ЭАЭ вызывали у самок крыс Вистар однократной подкожной инокуляцией гомогената гомологичного спинного мозга в полном адьюванте Фрейнда согласно описанной ранее методике (1). За неделю до иммунизации проводили генотипирование животных для выявления их принадлежности к одному из трех генотипов: гомозиготные носители аллеля ACT, гомозиготные носители аллеля GTG и гетерозиготы ACT/GTG. Копаксон вводили со 2-го по 15-й день после индукции ЭАЭ в дозе 4 мг/кг подкожно. После иммунизации ежедневно в течение 28 дней проводили оценку неврологических нарушений (парезов и параличей конечностей) и рассчитывали клинический индекс (КИ). Для всех животных по результатам ежедневных наблюдений определяли максимальный клинический индекс (индекс на пике заболевания — КИ_{макс}) и кумулятивный клинический индекс (КИ_{кум}). Клинические индексы, латентный период, продолжительность заболевания, а также процент легко- и тяжело болеющих животных служили критериями оценки тяжести заболевания и эффективности проводимого лечения. Легко болеющими считали животных с КИ = 0,5-3,5; тяжело болеющими — с КИ = 4—6.

Для выявления возможных механизмов различий в эффективности копаксона у животных разных генотипов было проведено сравнение уровней провоспалительных цитокинов семейства ИЛ-1 (ИЛ-1β и ИЛ-17а) в сыворотке крови крыс до индукции аутоиммунного процесса и далее на 7-е и 14-е сутки после инокуляции энцефалитогенной смеси. Для этого у отдельной группы животных под легким эфирным наркозом осуществляли забор крови из хвостовой вены. Содержание цитокинов в сыворотке крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов (MyBiosource, USA).

Результаты. Оценка эффективности копаксона без учета генотипа животных выявила значительные различия между контрольной группой и группой с введением препарата. У получавших копаксон крыс отмечено увеличение латентного периода, снижение максимального и кумулятивного клинических индексов, а также продолжительности заболевания. В целом это указывает на то, что введение копаксона облегчает тяжесть течения ЭАЭ.

Разделение животных на группы в соответствии с генотипом по исследуемому полиморфизму гена галанина выявило, что на фоне проводимой терапии существует зависимость лечебного эффекта копаксона от генотипа животного. А именно, с применением двухфакторного дисперсионного анализа показано, что влияние копаксона на величину максимального клинического индекса — основного показателя, характеризующего тяжесть заболевания, зависит от генотипа, причем наиболее выраженный эффект препарата отмечается у гомозиготных носителей аллеля ACT. По другим показателям — латентному периоду, кумулятивному клиническому индексу и длительности заболевания подобной взаимосвязи

не обнаружено. Сравнение доли легко- и тяжелоболеющих животных в исследуемых группах показало, что в целом (без учета генотипа) применение копаксона снижает процент тяжелоболеющих животных на 22,9 — с 54,5 до 31,6. Для гомозиготных носителей аллеля АСТ это снижение максимально и составляет 52,9 — с 60,0 до 7,1. В группе гомозиготных носителей аллеля GTG и у гетерозигот АСТ/GTG достоверного снижения доли тяжелоболеющих животных не отмечено.

Оценка уровня провоспалительных цитокинов показала, что исходное содержание и ИЛ-1 β , и ИЛ-17а (до инокуляции энцефалитогенной смеси) значительно ниже у гомозиготных носителей аллеля АСТ в сравнении с гомозиготными носителями аллеля GTG. Выявлены и различия в динамике содержания ИЛ-1 у получавших копаксон животных разных генотипов. Так, у получавших копаксон гомозиготных носителей аллеля GTG уровень ИЛ-1 значительно снижался в индуктивную фазу заболевания (на 7-е сутки после инокуляции энцефалитогенной смеси) и снова возрастал к 14-му дню. У гомозиготных носителей аллеля АСТ подобных изменений выявлено не было.

Заключение. Полученные данные раскрывают новые аспекты фармакогенетики копаксона и указывают на целесообразность проведения клинических исследований, направленных на выявление взаимосвязи между носительством вариантов гена галанина и эффективностью проводимой терапии у пациентов с рассеянным склерозом. Стоит учитывать, что частота минорных аллелей для наиболее исследованных полиморфизмов rs-948854 и rs-4432027, расположенных в промоторной области гена галанина человека, достаточно высока (составляет около 30%). А значит, такого рода исследования могли бы способствовать пониманию причин, обуславливающих в ряде случаев отсутствие ожидаемого терапевтического эффекта при применении копаксона и, возможно, оптимизации схемы лечения РС с учетом индивидуального молекулярного профиля пациента.

Список литературы

1. Абдурасулова И.Н., Сердюк С.Е., Гмиро В.Е. Сравнительное исследование профилактического и лечебного действия ИЭМ-1966 и мемантина у крыс с экспериментальным аллергическим энцефаломиелиитом // Бюлл. эксперим. биол. мед. — 2007. — Т. 144, №8. — С. 184—187.
2. Людыно В.И., Аксёнова Т.С., Абдурасулова И.Н., Клименко В.М. Аллельные варианты гена галанина у крыс Вистар // Нейрохимия. — 2014. — Т. 31, №1. — С. 16—22.
3. De Michele M., Sancesario G., Toni D., Ciuffoli A., Bernardi G., Sette G. Specific expression of galanin in the peri-infarct zone after permanent focal cerebral ischemia in the rat // Regul Pept. — 2006. — Vol. 134(1). — P. 38—45.
4. Wraith D.C., Pope R., Butzkueven H., Holder H., Vanderplank P., Lowrey P., Daye M.J., Gundlach A.L., Kilpatrick T.J., Scolding N., Wynick D. A role for galanin in human and experimental inflammatory demyelination // PNAS. — 2009. — Vol. 106 (36). — P. 15466—15471.

Орексин А-содержащие нейроны при введении антигена на фоне психоэмоционального стресса

Мазина В.А., Перекрест С.В., Новикова Н.С., Шаинидзе К.З., Насрединова А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук, Санкт-Петербург, Россия

Открытие в 1998 г. орексинов А и В [1] и их G-белок ассоциированных рецепторов [2] позволило исследовать

роль этих нейропептидов во многих физиологических функциях организма, включая цикл сон/бодрствование, терморегуляцию, пищевое поведение, аддиктивное поведение, ответные реакции на стресс, болевое восприятие, функции иммунной системы. Известно, что при введении антигенов количество орексинсодержащих нейронов, т.е. уровень орексина в них изменяется. Однако участие нейронов, содержащих орексина А и В в этом процессе остается неисследованным как и эффекты стрессирующего воздействия на антиген-индуцированные реакции этих нейронов.

Цель работы. Изучить реакции орексин А-содержащих нейронов гипоталамуса на введение антигена без и на фоне стрессирующего воздействия.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 24 взрослых самцах породы Wistar (200—250 г). Эксперименты проводили в одно и то же время с целью нивелирования различий, вызванных суточными колебаниями синтеза орексина А. Экспериментальные группы: интактные животные; животные которым вводили физиологический раствор или липополисахарид (ЛПС) (500 мкг/кг, E.coli 055:B5, Sigma); животные с ограничением подвижности в течение 1 часа; животные с ограничением подвижности в течение 1 часа и последующей инъекцией физиологического раствора или ЛПС. Ограничение подвижности осуществляли, помещая животных на 1 час в пластиковые контейнеры. Введение ЛПС и физиологического раствора производили сразу после окончания стрессирующего воздействия. Через 2 часа после проведения всех манипуляций животные были наркотизированы и подвергнуты интракардиальной перфузии. На замораживающем микротоме изготавливали фронтальные срезы головного мозга (30 мкм) и проводили иммуногистохимическое окрашивание авидин — биотиновым методом. Окрашенные срезы анализировали под световым микроскопом при помощи компьютерной программы VideoTest Master. Общее количество орексин А-позитивных нейронов оценивали в перифорникальной зоне латеральной гипоталамической области на срезах головного мозга (25—32 уровни, согласно атласу Swanson's).

Результаты. После инъекции ЛПС происходит уменьшение количества орексин А-позитивных нейронов на срезах, соответствующих 29 уровню головного мозга ($92,11 \pm 7,99$ vs $113,53 \pm 4,21$; $p < 0,05$). При ограничении подвижности, напротив, констатируется увеличение количества орексин А-позитивных нейронов на срезах 27 ($38,21 \pm 0,69$ vs $29,90 \pm 1,22$; $p < 0,05$) и 30 ($80,17 \pm 6,14$ vs $51,17 \pm 7,76$; $p < 0,05$) уровней головного мозга через 2 часа после психоэмоционального стресса. Предварительное ограничение подвижности изменяет реакцию этих нейронов на введение ЛПС, количество их не снижается, а увеличивается на срезах, соответствующих 28 ($143,13 \pm 6,62$ vs $114,70 \pm 4,11$; $p < 0,05$) и 29 ($133,19 \pm 6,77$ vs $99,46 \pm 7,08$; $p < 0,05$) уровням головного мозга.

Заключение. Таким образом, показано, что популяция орексин А-позитивных нейронов функционально неоднородна и различные ее субпопуляции по-разному отвечают на примененные воздействия — введение антигена и психоэмоциональный стресс. Введение ЛПС вызывает снижение содержания орексина А. Психоэмоциональный стресс, наоборот, приводит к накоплению орексина А в нейронах гипоталамуса через 2 часа после возде-

йствия, а их сочетанное применение изменяет паттерн и вектор реакции орексин А-позитивных нейронов на инъекцию ЛПС. Комплекс полученных данных демонстрирует зависимость характера активации центральных механизмов реализации взаимодействия нервной и иммунной систем от условий среды.

Список литературы

1. Lecea De L., Kilduff T.S., Peyron C., et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95. — P. 322—327.
2. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M., Matsuzaki I., Chemelli R.M., Tanaka H., Williams S.C., Richardson J.A., Kozlowski G.P., Wilson S., Arch J.R., Buckingham R.E., Haynes A.C., Carr S.A., Annan R.S., McNulty D.E., Liu W.S., Terrett J.A., Elshourbagy N.A., Bergsma D.J., Yanagisawa M. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior // Cell. — 1998. — Vol. 92. — P. 573—585.

Нарушение аминокрегуляторных механизмов в различных звеньях иммунной системы при рассеянном склерозе

Макаров С.В., Суханин В.С.

НОУ ВПО «Медицинский институт «РЕАВИЗ»
г. Самара, Россия

Анализ процессов в плане дизрегуляторной патологии сопряжен с оценкой биологической значимости обнаруживаемых изменений — являются они патогенетическими либо саногенетическими (Крыжановский Г.Н., 2002). Цель работы состояла в оценке экспрессирующей способности мононуклеарных клеток крови к биогенным аминам для выявления возможных дизрегуляторных механизмов в иммунной системе при рассеянном склерозе (РС) и оптимизации клинично-лабораторной диагностики этого заболевания. Методы исследования. Обследовано 86 больных РС в возрасте от 24 до 47 лет с длительностью заболевания от 2 до 19 лет с признаками инвалидизации по шкале EDSS от 3 до 8 баллов. В контрольную группу включены 11 пациентов с аутоиммунными заболеваниями (АИЗ). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных и доноров определялся иммуноферментным методом по уровню экспрессии мембранных маркеров. Для характеристики экспрессирующей способности мононуклеарных клеток крови (МНК) к биогенным аминам (серотонину, гистамину, адреналину) вычислялся коэффициент экспрессии, определяющий степень отклонения системы МНК от нормированных значений при инкубации с биогенными аминами и отражал свойства рецепторного аппарата этих клеток.

Результаты исследования. В группе больных РС в отличие от доноров отмечалось снижение экспрессирующей способности клеток с маркерами CD3+, CD8+ под влиянием всех биогенных аминов, за исключением CD4+, где такое свойство лимфоцитов выявлялось при инкубировании их с гистамином. Необходимо отметить, что большинство популяционных маркеров у больных РС реагировали увеличением экспрессирующей способности клеток на инкубацию с адреналином и в меньшей степени на присутствие в тест-системе серотонина. Отсутствие реакции лимфоцитов больных РС на серотонин в системе «*in vitro*» при ином методическом подходе, также было связано с нарушением иммунорегуляции (Невоструева О.Н. и др., 1999).

Исследования иммунологических показателей в группе с АИЗ выявило статистически значимое различие от-

носительных показателей лимфоцитов/моноцитов между больными РС с популяционными маркерами: CD20+ ($p < 0,025$), CD56+ ($p < 0,0032$). В группе с АИЗ наблюдались более значительные нарушения аминокрегуляции CD20+ клеток в тест-системах с адреналином и серотонином по сравнению с пациентами РС. Отмечено увеличение экспрессии CD16+, CD95+ клеток под влиянием адреналина и гистамина у пациентов с АИЗ по сравнению с больными РС. Прирост лимфоцитов/моноцитов в тест-системе с серотонином незначительно отличался в сравниваемых группах за исключением CD16+, CD25+, CD95+ клеток. В данном фрагменте работы представляла интерес оценка различий аминокрегуляторных процессов МНК у больных с активным и стабильным РС. В иммунограмме больных с активным РС показатели МНК с фенотипом CD54+, CD4+, CD25+, CD95+ оказались выше, что сопровождалось большими отклонениями данных от среднего значения в этой группе в отличие от стабильного РС. Иммунорегуляторный индекс при активном РС составлял 1,41, что на 25% выше, чем у больных со стабильным РС. Обращало внимание изменение коэффициента экспрессии мембранных маркеров CD8+ при сравнении активного и стабильного РС. При активном РС отмечалось меньше клеток с данным фенотипом в тест-системе с адреналином, но большее их количество при инкубации с гистамином. При активном РС было отмечено нарушение гистаминергической регуляции CD 16+ клеток, сопровождаемой их увеличением в тест-системе. Необходимо отметить также практическое отсутствие увеличения экспрессии мембранных маркеров под влиянием серотонина среди активационных маркеров: CD25+, CD95+ и клеток с фенотипом ЕК- CD56+ при активном РС.

Заключение. Концепция болезней регуляции стала основой развития современных представлений о роли нейроиммунных взаимосвязей в патогенезе нервных болезней (Магаева С.В., 2012 и др.). Низкая экспрессирующая способность МНК к серотонину у больных РС может использоваться в дополнительной клинично-лабораторной диагностике РС. Признаки нарушения гистаминергической регуляции в группе субпопуляционных маркеров (CD4+, CD8+) носят более устойчивый и возможно системный характер при РС. Отмеченное изменение гистаминергической регуляции цитотоксических механизмов при РС может служить лабораторным маркером развития РС и вполне согласуется с результатами (M. Lapilla et al., 2011), подтвердившими ингибирующий эффект гистамина на активированные к миелину аутореактивные Т-клетки в модели демиелинизирующего процесса. При аутоиммунных заболеваниях в сравнении с РС увеличивается экспрессия активационных и большинства популяционных маркеров под влиянием гистамина и адреналина, что может служить дополнительным иммунологическим признаком указанной патологии. Дискриминирующая способность аминокрегуляции в отношении МНК с различным фенотипом нуждается в дальнейшем исследовании, позволяющем уточнить их роль в пато- и саногенезе при РС.

Список литературы

1. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. — М.: Из-во ЗАО «РИТ-ЭКСПРЕСС», 2002. — 96 с.
2. Магаева С.В. Болезни нейроиммунорегуляции // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №3. — С. 4—10.
3. Lapilla M. et al. Histamine regulates autoreactive T cell activation and adhesiveness in inflamed brain microcirculation // Journal of Leukocyte Biology. — 2011. — Vol. 89, №2. — P. 259—267.

Взаимодействие сенсорных и иммунной систем при болезнях зависимости

Невидимова Т.И., Батухтина Е.И.,
Савочкина Д.Н., Бохан Н.А.

ФГБУ «НИИ психического здоровья СО РАМН», Томск, Россия

В наших предварительных исследованиях получены сведения о своеобразии продукции цитокинов и функционировании сенсорных систем при формировании зависимого поведения. При наркотической зависимости часто встречаются случаи повышенной толерантности или пристрастия к резким запахам некоторых спиртов и кетонов, сглаженности разницы между порогами чувствительности и переносимости боли, а также высокого уровня продукции интерлейкина-6 [3]. Остается неясной роль сенсорных отклонений в механизмах наркотической зависимости и предрасположенности к ее формированию, а также их взаимосвязанности с уровнем цитокинов.

Целью исследования было исследование сопряженности болевой чувствительности с уровнем продукции интерлейкина-6 в постабстинентный период наркотической зависимости.

Методы обследования: тензоалгометрия, опросники, иммуноферментный анализ супернатантов культур крови, стимулированных липополисахаридом.

Результаты. В постабстинентном состоянии лица с высоким уровнем продукции интерлейкина-6 обнаруживают парадоксальное снижение чувствительности к боли в тензоалгометрическом тесте на фоне высокого уровня значимости болевых переживаний в жизни пациентов.

Заключение. Источником полученных результатов могут быть сложные взаимодействия между ноцицептивной и нейропатической болью, ноцицептивной и антиноцицептивной системой, центральным и периферическим отделами эндогенной опиоидной системы, перцептуальным и эмоциональным компонентами ноцицептивной реакции, формирующими конкретный уровень толерантности к боли. Участие иммунорегуляторных механизмов в этих взаимоотношениях также заведомо несет противоречивый характер [1, 2]. В постабстинентный период не исключено цикличное снижение интенсивности нейровоспалительных процессов, инициируемых самими опиоидами [4].

Список литературы

1. Игонькина С.И., Ветрилэ Л.А., Кукушкин М.Л. Роль антигенов к нейромедиаторам антиноцицептивной системы в механизмах невропатической боли // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2013, №3. — С. 32–36.
2. Козлов А.Ю., Абрамова А.Ю., Перцов А.С. Корреляция между ноцицептивными порогами и содержанием цитокинов в периферической крови крыс на фоне антигенной стимуляции // Российский журнал боли. — 2014, №1. — С. 16–17.
3. Коконова Д.Н., Батухтина Е.И., Невидимова Т.И. и др. Особенности продукции цитокинов при формировании психических и поведенческих расстройств, вызванных употреблением психоактивных веществ // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. — 2009, №3. — С. 10–13.
4. Hutchinson M.R., Shavit Y., Grace P.M., Rice K.C., Maier S.F., Watkins L.R. Exploring the Neuroimmunopharmacology of Opioids: An Integrative Review of Mechanisms of Central Immune Signaling and Their Implications for Opioid Analgesia // Pharmacological Reviews. — 63 (3). — P. 772–810.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00183).

Характеристика иммунных и психологических защитных механизмов при психической дезадаптации

Никитина В.Б., Ветлугина Т.П., Стоянова И.Я.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН, г.Томск, Россия

Нарушение нейроиммунного взаимодействия под влиянием стрессорирующих факторов сопряжено как с ослаблением механизмов иммунной защиты и формированием вторичной иммунной недостаточности, так и с неспецифическими экстранозологическими реакциями психической дезадаптации и возможным последующим переходом их в психические расстройства. Устойчивость индивида к действию стресса во многом определяется иммунной реактивностью и своеобразием его личности, стереотипами личностного реагирования на стресс [1, 2].

Цель исследования — изучение особенностей иммунного статуса и механизмов психологической защиты при психоэмоциональном напряжении в континууме: оптимальная адаптация — психоадаптационные — психодезадаптационные состояния.

Методы. Обследованы практически здоровые люди, оказавшиеся в проблемной ситуации в первый временной период адаптации к новым условиям жизни. По результатам теста «Нервно-психическая адаптация» (Гурвич И.Н., 1992) все обследованные были распределены на три группы:

- 1-я группа — «здоровье», или оптимальная адаптация (129 чел.);
- 2-я группа — непатологическая дезадаптация (64 чел.);
- 3-я группа — патологическая дезадаптация (39 чел.).

Группу с непатологической дезадаптацией классифицировали как психоадаптационные состояния (ПАС), группу с патологической дезадаптацией — психодезадаптационные состояния (ПДАС) (Семке В.Я., 1999). Для оценки иммунного статуса применяли комплекс стандартных иммунологических методик. Экспериментально-психологическое обследование проводили с использованием опросника «Индекс жизненного стиля» (ИЖС) в переводе и адаптации Е.Б. Клубовой (1998) для диагностики различных механизмов психологической защиты (МПЗ): отрицание, вытеснение, регрессия, компенсация, проекция, замещение, интеллектуализация, реактивные образования и общая защита.

Результаты. В иммунном статусе лиц 2-й группы (ПАС) по сравнению с 1-й группой (оптимальная адаптация) установлено достоверное снижение количества Т-лимфоцитов CD3⁺-фенотипа, лимфоцитов с маркерами HLADR, В-лимфоцитов CD72⁺-фенотипа, концентрации сывороточного IgG. В группе ПДАС, кроме отмеченных отклонений во 2-й группе, выявлено снижение количества Т-лимфоцитов CD2⁺-фенотипа, NK-клеток CD16⁺-фенотипа, уровня ЦИК, концентрации IgA, т.е. в группе ПДАС нарушения иммунного статуса нарастают. Вместе с тем, диапазон отклонений практически каждого из параметров не выходит за границы колебаний соответствующих показателей в группе «здоровье», и их можно трактовать как компенсаторные и транзиторные, которые могут восстанавливаться при устранении неблагоприятных факторов [3].

Высокие показатели общей психологической защиты на уровне значимости по сравнению с I группой (47%) были характерны для группы ПДАС (61,0%, $p = 0,0001$) затем следует группа ПАС (54,0%, $p = 0,0001$). Во всех группах первым по значимости защитным механизмом являлась компенсация, вторым — реактивное образование. Помимо отмеченных МПЗ из наиболее часто используемых защитных механизмов в группе здоровых встречалось отрицание, в группе ПАС — интеллектуализация, в группе ПДАС — регрессия. Наиболее высокие показатели каждого МПЗ, а также уровень общей защиты отмечались при ПДАС. При анализе межсистемных взаимодействий в I-й группе обследованных с оптимальной адаптацией выявлены слабые недостоверные корреляционные взаимосвязи между способами МПЗ и компонентами системы иммунитета. При ПАС большинство достоверных взаимосвязей образует МПЗ замещение с параметрами клеточного иммунитета. При психозадаптации (ПДАС) число достоверных взаимосвязей увеличивается за счет вовлечения практически всех способов МПЗ, которые коррелировали с Т-хелперами/индукторами и факторами гуморального иммунитета. В целом, в континууме «здоровье—ПАС—ПДАС» нарастают отклонения параметров системы иммунитета, повышается показатель общей психологической защиты, увеличивается число и сила межсистемных взаимосвязей, что отражает повышение напряженности функционирования иммунной и психологической защиты по мере утяжеления психической дезадаптации.

Список литературы

- Идова Г.В., Альперина Е.Л., Чейдо М.А., Кузнецова С.М., Жукова Е.И., Юрьев Д.В. Нейроиммунные взаимодействия при психоэмоциональном напряжении (экспериментальное исследование) // Бюл. СО РАМН. — 2010. — Т. 30, №4. — С. 31—37.
- Дмитриева Т.Б., Воложин А.И. Социальный стресс и психическое здоровье. — М., 2001. — 247 с.
- Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Невидимова Т.Н., Лобачева О.А., Батухтина Е.И., Стоянова И.Я., Семке В.Я. Система иммунитета и уровень тревожности при адаптации человека к новым условиям жизнедеятельности // Фундаментальные исследования. — 2012. — №9. — Ч. 1. — С. 17—21.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РГНФ в рамках научно-исследовательского проекта «Разработка патодинамической модели психической дезадаптации на основе иммунобиологических и психологических критериев», проект №12-06-00752.

ЛПС-индуцированные изменения системы орексин-содержащих и орексин-чувствительных нейронов в центральной нервной системе

Новикова Н.С., Перекрест С.В., Шаипидзе К.З., Мазина В.А., Корнева Е.А.

ФГБУ НИИ Экспериментальной медицины СЗО РАМ Санкт-Петербург, Россия

Орексин-содержащие нейроны локализованы в перифорникальной области гипоталамуса тогда как отростки этих нейронов достигают различных отделов головного и спинного мозга за исключением мозжечка [1]. В местах наибольшего скопления отростков и их окончаний детектированы трансмембранные рецепторы двух типов к орексинам А и Б. К настоящему времени накоплен

большой объем материала, свидетельствующий об участии орексина в регуляции различных физиологических процессов. Ранее проведенными исследованиями показано участие орексин-содержащих нейронов гипоталамуса в реакциях мозга на введение антигена [2].

Целью настоящей работы стало определение пространственно-временного паттерна реакций орексин-содержащих и орексин-чувствительных нейронов ЦНС вовлеченных в механизмы реализации нейро-иммунных взаимодействий при введении антигенов на основе анализа количества орексин-содержащих нейронов, уровня экспрессии генов препроорексина и рецепторов к орексинам.

Материал и методы. Эксперименты проводили на 36 крысах-самцах породы Вистар массой 200—250 г. Все эксперименты проводили в утренние часы. Липополисахарид (ЛПС) (*E.coli* 055:B5 Sigma) в несептической (25 мкг/кг) или субсептической (500 мкг/кг) дозе вводили в хвостовую вену однократно, в качестве контроля вводили физиологический раствор (NaCl). Все инъекции проводили в объеме 200 мкл. Экспериментальные группы: животные, которым вводили физиологический раствор, ЛПС в несептической или субсептической дозе. Животных выводили из опыта через 2, 4, 6 часов после инъекции. Для проведения полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени образцы мозга извлекали после декапитации. Контроль над ходом полимеразно-цепной реакции и регистрацию данных производили с помощью ПК и программы «Opticon Monitor 3.1». Дополнительный контроль специфичности продукта реакции проводили по длине его молекулы при помощи электрофореза в агарозном геле. Длина полученных продуктов соответствовала заданной при подборе праймеров. Для проведения иммуногистохимической окраски замороженных срезов, мозг извлекали после интракардиальной перфузии наркотизированных животных, в качестве первых антител использовали кроличьи антитела к орексину А (1:5000) (Sigma), в качестве вторых — моноклональные анти-кроличьи иммуноглобулины (клон RG-16), конъюгированные с биотином (1:1000) (Sigma), детекцию которых проводили с помощью авидин-пероксидазной метки (Sigma). Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали 0,02% раствор 3'3'-диаминобензидина.

Подсчет иммунореактивных орексин-позитивных нейронов проводили с помощью компьютерной программы Видео-Тест Мастер. Статистическую обработку данных осуществляли при помощи t-критерия Стьюдента.

Результаты. Анализ количества орексина-позитивных клеток гипоталамуса в первые часы (через 2, 4 и 6 часов) после в/в введения ЛПС в дозах 25 и 500 мкг/кг веса животного позволил определить увеличение количества визуализированных нейронов только через 2 часа и уменьшение через 6 часов по сравнению с количеством орексина-позитивных нейронов после в/в введения физиологического раствора. Изменения количества нейронов, содержащих орексин А происходит в определенных зонах перифорникальной области гипоталамуса и соответствуют срезам 28 и 29 уровней мозга, согласно атласу Swanson's. Данные, полученные в ходе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ ПЦР) свидетельствуют об увеличении синтеза мРНК препроорексина в гипоталамусе через 2 часа после инъекции ЛПС в исследуемых дозах. ЛПС-индуцированные изменения

относительного уровня экспрессии генов рецепторов к орексинам (OxR1 и OxR2) в структурах ЦНС (в клетках гипоталамуса, среднего мозга, продолговатого мозга и грудных сегментах спинного мозга) обнаружены только через 4 часа, проявившиеся в повышении уровня экспрессии гена OxR1 в клетках среднего мозга и снижении уровня экспрессии гена OxR2 в клетках гипоталамуса. Кроме того, после введения ЛПС в дозе 25 мкг/кг было отмечено увеличение синтеза мРНК OxR1 в клетках спинного мозга и — OxR2 в клетках среднего мозга.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении орексин-содержащих и орексин-чувствительных клеток центральной нервной системы в реакции мозга в первые часы после аппликации антигена. Увеличение синтеза мРНК препроорексина, изменение количества орексин А иммунореактивных нейронов, различный характер изменений уровня экспрессии генов рецепторов к орексинам в исследованных структурах ЦНС при введении антигена в различных дозах свидетельствует о том, что в ответ на введение антигена возникает каскад реакций, в которые вовлечены определенные группы орексин-содержащих нейронов гипоталамуса и орексин-чувствительные нейроны различных отделов ЦНС.

Список литературы

1. Peyron C., Tighe D.K., van den Pol A.N., de Lecea L., Heller H.C., Sutcliffe G., Kilduff Th.S. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems // J. Neuroscience 1998. — Vol. 18, №23. — P. 9996—10015.
2. Perekrest S.V., Abramova T.V., Novikova N.S., Loskutov Yu.V., Rogers V.J., Korneva E.A. Changes in immunoreactivity of Orexin-A-Positive Neurons after an Intravenous Lipopolysaccharide injection // Medical Science Monitoring. — 2008. — Vol. 14, №7. — BR127—133.

Роль генетических вариантов полиморфизма параоксоназы Q192R в коморбидности алкогольной зависимости и иммуно-опосредованной соматической патологии

Пинченко Л.Ф., Баронец В.Ю., Наумова Т.А., Пирожков С.В., Тербилина Н.Н., Шойбонов Б.Б.

ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» Минздрава РФ, Москва

ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, РФ, Москва

Параоксоназа (PON-1) — полифункциональный фермент, имеющий несколько каталитических центров, способных гидролизовать органофосфатные токсины (по которым фермент и получил свое название), перекиси липидов и липопротеинов низкой плотности, а также тиолактоны гомоцистеина. Гидролиз окисленных ЛНП и тиолактона гомоцистеина рассматриваются как важные протекторные механизмы в борьбе с сердечно-сосудистыми заболеваниями и атерогенезом (Aviram M. et al., 2013). Тиолактон гомоцистеина, соединяясь с лизиновыми остатками белков, вызывает образование амилоидо-подобных структур, нейротоксические эффекты и вносит значительный вклад в развитие депрессий, биполярных расстройств, шизофрении, судорог и других нейropsychических нарушений (Bortolasci C.C. et al., 2014). Известно много полиморфизмов PON-1, из которых наиболее распространенным и патофизиологически значимым является полиморфизм Q192R, характеризующийся заменой

глутамина в 192 положении на аргинин. По данным ряда авторов (Hassan M.A. et al., 2013) частота отдельных генетических вариантов полиморфизма Q192R различается у лиц с неодинаковой предрасположенностью к ССЗ, хотя данные, приводимые разными авторами, противоречивы. В литературе имеются немногочисленные работы о влиянии потребления алкоголя на активность PON-1, но полностью отсутствуют сведения о частоте различных генетических вариантов полиморфизма Q192R у лиц с алкогольной зависимостью без соматических осложнений и с алкоголизмом, осложненным ССЗ и заболеваниями печени. Нами проведено исследование активности и распределения генетических вариантов сывороточной PON1 у 99 больных алкогольными заболеваниями печени (АЗП), 40 больных алкогольной дилатационной кардиомиопатией (АКМП), 25 больных ишемической болезнью сердца неалкогольного генеза (ИБС), 69 больных алкогольной зависимостью без клинических признаков ССЗ и АЗП (АЗ) и у 29 здоровых добровольцев. Активность PON1 определяли спектрофотометрическим методом Eckerson H.W. с параоксон-этилом в качестве субстрата, а распределение частот трех функциональных генотипов полиморфизма PON1Q192R: QQ с двумя глутаминовыми аллелями, QR с глутамином и аргинином и RR — с двумя аргининами — осуществляли наиболее широко принятым лабораторным методом: генотипированием сывороточных проб по реакции PON1 на изменение ионной силы инкубационной среды, надежность которого подтверждена высокой степенью совпадения результатов при параллельных определениях методом ПЦР (Aviram M. et al., 2000; Mahrooz A. et al., 2014). Обнаружено снижение активности PON1 по сравнению с контрольной группой в обеих группах больных ССЗ и в группе больных АЗП (АКМП — $73,53 \pm 8,03$, ИБС — $87,68 \pm 11,81$, АЗП — $92,9 \pm 9,99$, контрольная группа — $114,5 \pm 10,8$), но из-за высокой вариабельности активности PON1, широко отмечаемой в литературе и связываемой с обилием полиморфизмов, статистическая достоверность угнетения PON1 отмечена только в группе АКМП ($p < 0,001$). В группе больных с неосложненной АЗ обнаружено, напротив, повышение активности PON1 в сравнении с группой здоровых лиц ($281,13 \pm 28,45$, $p < 0,001$). Последний факт объясняется скорее всего существенными различиями в частоте различных генотипов PON1 Q192R между контрольной группой и группой АЗ. В первую очередь это касается QQ-генотипа, частота которого составила в контрольной группе 41,4%, а у больных АЗ — 14,7% ($p < 0,01$). QQ-генотип характеризуется в среднем в 6 раз более низкой активностью гидролиза параоксона в сравнении с генотипами, несущими R-аллель. Интересно, что способность к гидролизу параоксона и способность предотвращать окисление ЛНП находятся в противоположных отношениях у разных генотипов Q192R. В частности, QQ-генотип имеет наименьшую параоксоназную активность, но максимальную антиоксидантную активность, что обусловлено предположительно особой ролью глутамина в 192 положении в обеспечении связи фермента с частицами ЛВП. PON1 способна гидролизовать органофосфатные токсины даже в отсутствие ЛВП, но другие свои функции (антиоксидантную, гомоцистеин-тиолактоназную, функцию обратного транспорта холестерина из макрофагов) она выполняет, только находясь в структуре ЛВП. Сниженная частота QQ-генотипа выявлена нами и в других группах больных:

у больных АКМП — 20,6% ($p \approx 0,05$), АЗП — 25,3% ($p \approx 0,1$), ИБС — 26,1% ($p \approx 0,1$). Корреляционный анализ продемонстрировал ассоциированность QQ-генотипа с антиатерогенным эффектом (отрицательная корреляция со степенью выраженности хронической сердечной недостаточности по классификации NYHA, с параметрами расширения левого желудочка и положительная корреляция с фракцией выброса), антиоксидантной активностью (отрицательная корреляция с уровнем окисленных ЛИП), антитромбозным (положительная корреляция с активностью НАДФН-редуктазного домена NO-синтазы тромбоцитов и уровнем стабильных метаболитов оксида азота в плазме) и противовоспалительным действием (отрицательная корреляция с количеством цитотоксических лимфоцитов, активированных форм нейтрофилов, активностью аргиназы — маркера M2-типа воспаления). Носительство R-генотипа коррелирует с перечисленными показателями с противоположным знаком. Таким образом, полученные нами данные подтвердили большой вклад активности PON1 в регуляцию иммуно-воспалительного, окислительного и нитрозативного стрессов, коморбидность алкоголизма с иммуно-опосредованными соматическими осложнениями и роль различных генетических вариантов полиморфизма Q192R в определении индивидуальной чувствительности к алкогольной зависимости и ее соматическим осложнениям.

Список литературы

1. Aviram M., Vaya J. Paraoxonase 1 activities, regulation, and interactions with atherosclerotic lesion // *Curr. Opin. Lipidol.* — 2013. — Vol. 24, №4. — P. 339–344.
2. Bortolasci C.C., Vargas H.O., Souza-Nogueira A. et al. Lower plasma paraoxonase (PON)1 activity is a trait marker of major depression and PON1 Q192R gene polymorphism-smoking interactions differentially predict the odds of major depression and bipolar disorder // *J. Affect. Disord.* — 2014. — Vol. 159. — P. 23–30.
3. Hassan M.A., Al-Attas O.S., Hussain T. et al. The Q192R polymorphism of the paraoxonase 1 gene is a risk factor for coronary artery disease in Saudi subjects // *Mol. Cell. Biochem.* — 2013. — Vol. 380, №1–2. — P. 121–128.
4. Aviram M., Hardak E., Vaya J. et al. Human serum paraoxonase (PON)1 Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. PON1 esterase and peroxidase-like activities // *Circulation.* — 2000. — Vol. 101, №21. — P. 2510–2517.
5. Mahrooz A., Gohari G., Hashemi M.B. et al. R-carrying genotypes of serum paraoxonase (PON)1 192 polymorphism and higher activity ratio are related to susceptibility against ischemic stroke // *Mol. Biol. Rep.* — 2012. — Vol. 39, №121. — P. 1177–1185.

Экспрессия генов препроорексина и рецепторов к орексину 1 и 2 в гипоталамусе и надпочечниках крыс после введения липополисахарида на фоне психоэмоционального стресса

Перекрест С.В., Мазина В.А., Шаинидзе К.З., Новикова Н.С., Корнева Е.А.

ФГБУ НИИ Экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Орексины — нейропептиды, синтезируемые, главным образом, небольшой популяцией гипоталамических нейронов с общего предшественника (препроорексина). Орексин-содержащие нейроны участвуют в регуляции различных физиологических функций организма, в том числе, в развитии ответа ЦНС на введение антигена, а также в реализации стресс-реакций. Рецепторы к орекси-

ну 1 и 2 (OxR1 и OxR2) были выявлены на клетках как ЦНС, так и различных внутренних органов, включая надпочечники. Известно, что психоэмоциональный стресс влияет на функциональную активность клеток иммунной системы, изменяя восприимчивость организма к различным патогенам. Несмотря на изложенные факты, центральные механизмы влияния стресса на процессы нейроиммунных взаимодействий до сих пор остаются малоизученными.

Целью данной работы было изучение уровня экспрессии генов препроорексина и рецепторов к орексину 1 и 2 в гипоталамусе и надпочечниках крыс после введения липополисахарида (ЛПС) и ограничения подвижности.

Материалы и методы. Исследование было проведено на 24 крысах самцах породы Wistar (200–250 г). Животные были поделены на 6 экспериментальных групп:

- 1) интактные животные;
- 2) после ограничения подвижности (в течение 1 часа);
- 3) после внутривенного введения физиологического раствора;
- 4) после внутривенного введения ЛПС (500 мкг/кг, E. coli 055:B5, Sigma);
- 5) после внутривенного введения физиологического раствора на фоне ограничения подвижности;
- 6) после внутривенного введения ЛПС на фоне ограничения подвижности.

Для воспроизведения психоэмоционального стресса животных в течение 1 часа фиксировали в пластиковых контейнерах, после чего вводили 200 мкл ЛПС или физиологического раствора. Через 2 часа после проведенных манипуляций крыс декапитуировали и извлекали гипоталамус и надпочечники для проведения количественной ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровень экспрессии генов определяли относительно экспрессии «house-keeping» гена глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы.

Результаты. Проведенное исследование показало, что ограничение подвижности приводит к снижению экспрессии гена препроорексина в клетках гипоталамуса крыс. Если введение ЛПС не вызывало изменений данного параметра, то в сочетании с психоэмоциональным стрессом применение указанного антигена приводило к его возрастанию. Уровень экспрессии генов OxR1 и OxR2 в клетках гипоталамуса оставался неизменным во всех исследованных экспериментальных группах. В клетках надпочечников экспрессия генов OxR1 и OxR2 была снижена в результате психоэмоционального воздействия. Введение ЛПС также приводило к уменьшению уровня экспрессии гена OxR1. Сочетанное применение указанных воздействий отменяло описанные изменения в синтезе мРНК рецепторов к орексину. Изменений в экспрессии гена препроорексина в клетках надпочечников выявлено не было.

Заключение. Таким образом, сочетанное воздействие психоэмоционального стресса и антигена изменяет паттерн реакций орексинергической системы, наблюдаемый при отдельном применении указанных воздействий, что приводит к усилению синтеза орексина в клетках гипоталамуса и нивелирует стресс- или ЛПС-индуцированные изменения синтеза OxR1 и OxR2 в клетках надпочечников крыс.

Биохимические изменения в тканях крыс с разными параметрами поведения при метаболическом стрессе

Перцов С.С.^{1,2}, Кирбаева Н.В.³, Кулакова С.Н.³,
Батурина В.А.³, Карагодина З.В.³,
Шаранова Н.Э.³, Васильев А.В.³

¹ — ФГБУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

² — Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, Россия

³ — ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва, Россия

Согласно нейрофизиологической теории голода, аппетита и насыщения, разработанной в научной школе академика П.К. Анохина и академика К.В. Судакова, голод и насыщение являются крайними состояниями в деятельности функциональной системы питания. Для идентификации специфики развития постстрессорных биохимических нарушений актуально исследование динамики изменения отдельных нутриметаболических маркеров при пищевой депривации у особей с разными параметрами поведения, характеризующихся различиями системной организации физиологических функций в норме и при патологии [2].

Целью работы было изучение динамики изменений содержания коэнзима Q10 и спектра ПНЖК омега-3 и омега-6 в сыворотке крови, печени и мозге, а также интенсивности процессов ПОЛ в сыворотке крови и печени у поведенчески пассивных и активных крыс в разные временные периоды при пищевой депривации и последующем восстановлении.

Методика исследования. Опыты выполнены на 48 крысах самцах Вистар с массой тела $181,3 \pm 16,1$ г. В качестве модели метаболического стресса у крыс использовали 5-дневное голодание. Индивидуально-типологические характеристики животных определяли при их тестировании в открытом поле [1]. В зависимости от поведения крысы были разделены на активных и пассивных особей. Было выделено 6 групп, состоящих из 8 животных каждая: интактные активные и пассивные особи; активные и пассивные особи, подвергнутые 5-дневному голоданию; активные и пассивные особи, получавшие общеживарный рацион в течение 5 дней после 5-дневного голодания. Крыс умерщвляли декапитацией. Содержание коэнзима Q10 измеряли в сыворотке крови, ткани мозга и печени [3]. Определяли состав жирных кислот липидов сыворотки крови, ткани печени и мозга. Исследовали содержание ТБК-активных продуктов в крови и печени [4]. Достоверность межгрупповых различий определяли методом Стьюдента.

Результаты исследования. Содержание коэнзима Q10 в сыворотке крови поведенчески активных и пассивных крыс увеличивалось в период острой метаболической нагрузки, вызванной 5-дневным голоданием (в 6,2 и 2,7 раза соответственно по сравнению с контролем). В период восстановления (5 дней) наблюдалось значительное повышение уровня коэнзима Q10 в сыворотке крови активных животных (в 11,2 раза, $p < 0,05$). В указанных условиях у поведенчески пассивных особей данный показатель оставался на том же уровне, что и во время метаболического стресса.

Динамика содержания коэнзима Q10 у активных и пассивных крыс проявлялась в повышении его уровня во

время стресса (в 4,5 и 2,9 раза соответственно) с последующим снижением до контрольных значений в восстановительный период.

Значимые различия адаптационных изменений уровня коэнзима Q10 наблюдались в ткани мозга животных. В группе активных крыс во время метаболического стресса выявлено значительное увеличение содержания коэнзима Q10 в ткани мозга (в 3,6 раза по сравнению с контролем, $p < 0,05$). В то же время, у пассивных животных данный показатель в период стресса не отличался от фонового значения. Уровни коэнзима Q10 в ткани мозга у пассивных и активных крыс, входящих в группы контроля и восстановления, не различались.

Исследование жирнокислотного состава ПНЖК омега-3 и омега-6 в сыворотке крови, печени и тканях головного мозга крыс показало следующее. Независимо от метаболического стресса содержание ПНЖК омега-3 кислот оставалось наиболее высоким в липидах мозга. В состоянии голода у поведенчески активных животных уровень этих кислот был выше, чем у пассивных особей. В восстановительный период содержание ПНЖК омега-3 уменьшалось у активных крыс, оставаясь выше соответствующего значения у животных контрольной группы. В период голода и в процессе восстановления у крыс обеих групп наблюдалось значительное возрастание содержания длинноцепочечных жирных кислот 22:4 (у активных животных в 2,4 и 2,5 раза соответственно, $p < 0,001$; у пассивных животных в 1,4 [$p < 0,001$] и 1,3 раза [$p < 0,01$] соответственно) и 22:5 омега-3 (у активных животных в 3,8 и 3,9 раза соответственно, $p < 0,001$; у пассивных животных в 3,4 и 5,7 раза соответственно, $p < 0,001$). Уровень ПНЖК омега-6 в ткани мозга крыс во время метаболического стресса не изменялся.

В коре головного мозга крыс, как и в целом мозге, обнаружено высокое содержание ПНЖК омега-3. Это связано с высоким уровнем докозагексаеновой кислоты 22:6 омега-3; предшественники этого соединения — 18:3 и 20:5 омега-3 — выявлены в минимальных количествах. Содержание ПНЖК омега-3 в период голода у поведенчески активных животных было в 1,2 раза меньше, чем у пассивных особей, и во время восстановления практически достигало контрольного уровня. У пассивных крыс в период голода отмечено возрастание содержания ПНЖК омега-3 и омега-6 в 1,1 раза по сравнению с контролем.

В составе жирных кислот печени у крыс преобладали жирные кислоты семейства омега-6. В состоянии голода как у активных, так и у пассивных животных обнаружено выраженное снижение содержания линолевой кислоты С 18:2 омега-6 (в 1,6 и 1,7 раза соответственно, $p < 0,001$ по сравнению с контролем). Однако в указанных условиях у крыс данных групп наблюдалось значительное возрастание уровня арахидоновой кислоты — конечного продукта метаболизма жирных кислот этого семейства (в 1,4 [$p < 0,01$] и 1,3 раза [$p < 0,05$] соответственно). Выявленные изменения указывают на активацию метаболизма жирных кислот омега-6 у крыс в состоянии голода. В процессе восстановления содержание арахидоновой кислоты в печени несколько снижалось, но не достигало контрольного показателя. В состоянии голода у крыс с разной поведенческой активностью установлено выраженное увеличение содержания ПНЖК омега-3, что было связано с ростом уровня докозагексаеновой кислоты (у активных животных в 3 раза, $p < 0,001$; у пассивных животных в 3,5 раза,

$p < 0,001$). Таким образом, голодание стимулирует метаболические процессы омега-3 кислот в печени поведенчески активных и особенно пассивных животных. Несмотря на незначительное снижение общего содержания ПНЖК омега-6 кислот в состоянии голода, интенсивность образования 20:4 омега-6 из ее предшественника 18:2 выражено возрастает в указанных условиях, что подтверждается изменением соотношения этих соединений.

В составе жирных кислот сыворотки крови крыс, как и в печени, преобладали жирные кислоты семейства омега-6. В состоянии голода у поведенчески активных и пассивных животных обнаружено значительное снижение уровня линолевой кислоты (в 1,3 и 1,7 раза [$p < 0,001$] соответственно). В то же время, содержание арахидоновой кислоты, необходимой для биосинтеза регуляторов обменных процессов — простагландинов и лейкотриенов, практически не изменялось в этих условиях. Уровень этого соединения несколько возрастал у поведенчески пассивных животных. Активность метаболических процессов по линии омега-6 кислот во время голода повышалась у крыс с разными характеристиками поведения. Во время голода обнаружено значительное снижение содержания ПНЖК омега-3 у животных (у активных животных в 1,7 раза, у пассивных животных в 2,3 раза). Уровень этих кислот у поведенчески пассивных и особенно у активных крыс оставался сниженным в период восстановления.

Во время стресса, вызванного голодом, у поведенчески пассивных и активных крыс происходит накопление продуктов ПОЛ (ТБК-активных продуктов) в печени; их содержание увеличивалось в 1,6 и 1,7 раз соответственно ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Статистически достоверных различий интенсивности этих процессов у особей с разными характеристиками поведения не выявлено. В период восстановления у животных наблюдалась нормализация содержания ТБК-активных продуктов в тканях печени.

Метаболический стресс, вызванный голоданием, не оказал существенного влияния на содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке крови крыс. Указанный показатель практически не отличался у животных разных экспериментальных групп.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют отличительные особенности адапционно-компенсаторных процессов у крыс с различными характеристиками поведения, подверженных метаболическому стрессу на модели голодания. Следует отметить, что изучение нутри-метаболических маркеров печени выявило сходные изменения данных показателей у поведенчески пассивных и активных животных. Однако особи с указанными параметрами поведения характеризовались противоположной динамикой изменения изучаемых показателей в тканях головного мозга. Следовательно, млекопитающие с исходно разной эмоциональной реактивностью демонстрируют активацию различных механизмов адаптации в условиях стресса. Кроме этого, системная стрессорная реакция у особей с различными поведенческими характеристиками проявляется в специфических изменениях биохимических процессов в периферических и центральных тканях организма.

Список литературы

1. Коплик Е.В. // Вестн. нов. мед. технол. — 2002. — Т. 9, №1. — С. 16—18.

2. Перцов С.С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса. — М.: Изд-во РАМН, 2011. — 232 с.

3. Шаранова И.Э., Батурина В.А., Васильев А.В., Гаппаров М.М.Г. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2011. — Т. 151, №6. — С. 624—626.

4. Шаранова И.Э., Кулакова С.И., Торопыгин И.Ю. и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2012. — Т. 154, №9. — С. 302—307.

Критерии развития тяжелого сепсиса при острых отравлениях нейролептиками и наркотиками

Пивоварова Л.П., Лукин В.А., Малышев М.Е., Осипова И.В., Арискина О.Б.

ГБУ СПб. НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, РФ

Цель исследования — определение диагностических критериев развития синдрома системного воспалительного ответа в ранней фазе острых отравлений веществами нейротропного действия с целью прогноза формирования септических осложнений и повышения эффективности патогенетической детоксикационной терапии.

Обследовано две группы пострадавших (всего 351 человек) с острыми отравлениями нейролептиками и веществами наркотического действия тяжелой степени, средний возраст которых составил $38,4 \pm 5,9$ года. В 1-ю группу вошли 126 чел. с острыми отравлениями нейролептиками, из которых 105 (83,3%) выжило и 21 (16,7%) умерло; во 2-ю группу — 225 чел. с острыми отравлениями веществами наркотического действия, из которых 186 — выжило (83,7%) и 39 больных умерло (17,3%). Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту, полу и тяжести состояния при поступлении в стационар. Тяжесть состояния у всех больных при поступлении была обусловлена воздействием токсичной дозы нейротропного вещества и характеризовалась токсической энцефалопатией, нарушениями функции кровообращения и дыхания. Несмотря на различия в механизмах действия исследуемых ксенобиотиков, вызвавших острое отравление, объединяющим для всех больных был депримирующий характер воздействия веществ на центральную нервную систему и острое развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) (Bone R.C., 1992). Оценивали клинические проявления острого отравления, токсикологический анамнез, в том числе ориентировочную дозу ксенобиотика, путь введения, время экспозиции, результаты химико-токсикологического исследования крови и мочи. Уровень сознания определяли по шкале комы Глазго. Признаки ССВО, сепсиса и тяжелого сепсиса определяли по критериям, определенным на IV Калужской согласительной конференции (2004). Тяжесть полиорганной недостаточности связанной с сепсисом оценивали по шкале SOFA (sepsis related organ failure assessment score) принятой Европейским обществом интенсивной терапии (Vincent J.L. et al., 1996). Для подтверждения диагноза пневмонии выполняли рентгенографию органов грудной клетки. Исследования проводили в динамике — при поступлении пациентов в стационар, через 1, 3 и 5 суток после инцидента. Определяли содержание ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10 в сыворотке крови методом ИФА (Bender Systems, eBioscience, Austria и ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск); СРБ иммунотурбидиметрическим методом (COBAS INTEGRA, биохимический анализатор STA — Compact,

Roche (Швейцария); прокальцитонина (ПКТ) иммунолюминометрическим методом («БРАМС АГ», «Lumat LB 9507» (Германия). Пороговые значения предполагаемых лабораторных предикторов развития сепсиса и тяжелого сепсиса определяли при построении графиков ROC-кривой в координатах «чувствительность—специфичность» и ее анализа, вычисляя AUC (Beck J.R., 1986).

Полученные данные показали, что у больных с острыми отравлениями нейролептиками количество баллов по шкале комы Глазго у умерших больных уменьшалось, начиная с 3 суток наблюдения, в то время как у выживших пациентов сознание постепенно прояснялось и к 5 суткам наблюдения достигало уровня обнуляции или ясного сознания. У умерших больных сознание оставалось угнетенным до уровня комы. При острых отравлениях веществами наркотического действия уровень угнетения сознания при поступлении достоверно не различался у выживших ($6,4 \pm 0,2$ балла) и у умерших больных ($5,5 \pm 0,6$ балла). В дальнейшем восстановление сознания наблюдалось через 1 сутки у выживших больных; у умерших больных угнетение сознания на уровне комы II степени сохранялось на протяжении всего периода наблюдения. Клиническая картина сопровождалась изменениями газового состава крови, развитием тяжелой гипоксии смешанного типа, изменения уровня лактата. У больных как с острыми отравлениями нейролептиками, так и с острыми отравлениями наркотическими веществами, имевших летальный исход, количество признаков ССВО и органной дисфункции всегда было достоверно выше по сравнению с выжившими пациентами и оставалось на высоком уровне на протяжении всего периода наблюдения. В группах выживших пациентов с острыми отравлениями нейролептиками и веществами наркотического действия количество признаков ССВО составляло $2,0 \pm 0,5$ при поступлении и снижалось во все сроки наблюдения. Развитие системного воспалительного ответа сочеталось с нарастающими явлениями полиорганной недостаточности (SOFA > 4 баллов). В группе умерших больных с острыми отравлениями нейролептиками степень органной дисфункции по шкале SOFA нарастала с $4,7 \pm 0,7$ до $8,7 \pm 1,2$ балла, в группе умерших больных с острыми отравлениями веществами наркотического действия увеличение отмечено с $12,1 \pm 0,53$ до $14,1 \pm 0,67$ балла. Изменения были обусловлены развитием печеночной и почечной недостаточности. У выживших больных обеих групп степень органной дисфункции уменьшалась к концу периода наблюдения.

Содержание IL-6 в крови было повышено в несколько раз у пациентов из группы с летальным исходом по сравнению с выжившими больными: с острым отравлением нейролептиками в 3—5,8 раза в 1,3,5 сутки; у пациентов с острым отравлением наркотиками — в 2,4—7,2 раза при поступлении, на 3 и 5 сутки наблюдения. Было отмечено повышение уровня СРБ в крови больных как с острыми отравлениями нейролептиками ($96,1 \pm 24,5$ мг/мл), так и с острыми отравлениями веществами наркотического действия опийной природы ($83,1 \pm 17,5$ мг/мл) (норма $3,4 \pm 0,5$ мг/мл) через 1 сутки после поступления в стационар, наиболее выраженное у пациентов с летальным исходом. У выживших пациентов обеих групп наблюдалось его полное восстановление. Однако, достоверная корреляция тяжести состояния больных с острыми отравлениями нейролептиками и развитием летального исхода выяв-

лена только с содержанием IL-6 в крови ($r = 0,76$). Отмечено многократное повышение уровня IL-10 в крови, как одного из основных маркеров развития системного воспаления и критических состояний. Так, у больных с острым отравлением нейролептиками и наркотиками, у которых развился тяжелый сепсис с летальным исходом, уже при поступлении в реанимационное отделение содержание ИЛ-10 в 70 раз и в 200 раз соответственно превышало нормальные значения. Содержание ПКТ, одного из маркеров развития сепсиса, в сыворотке крови больных с острыми отравлениями нейролептиками возрастало до диагностически значимой величины для тяжелого сепсиса (2 нг/мл и выше) на 3—5 сутки наблюдения. Уровень ПКТ у больных с острыми отравлениями веществами наркотического действия при поступлении был достоверно повышен у пациентов обеих групп, однако у больных с летальным исходом данный показатель превышал 20 нг/мл на протяжении всего периода наблюдения. Определение IL-8 в крови пациентов показало, что в 1-е сутки после острого отравления наркотическими средствами уровень вышеуказанного параметра наиболее высок (в 10,4 раза превышает норму), а у пациентов с острыми отравлениями нейролептиками не изменяется на протяжении всего периода наблюдения. Среди изученных показателей у пострадавших с острыми отравлениями нейролептиками наиболее четкую связь с развитием тяжелого сепсиса ($p < 0,05$) имели уровни IL-6, IL-10, ПКТ в крови пациентов через 1 сутки после поступления (уровни корреляции составили $r = 0,54$; $r = 0,61$; $r = 0,59$ соответственно). При ROC-анализе выявлена сильно выраженная изогнутость ROC-кривой для IL-6 в крови на 1-е сутки после поступления больных в стационар с пороговыми значениями концентрации 184 пг/мл, оцененная как хорошая предсказательная ценность для развития тяжелого сепсиса (AUC = 0,98;), что позволяет использовать ИЛ-6 как маркер развития тяжелого сепсиса у данной категории больных. Лабораторными предикторами тяжелого сепсиса в 1-е сутки после острого отравления веществами наркотического действия являются высокие уровни в крови IL-10 с пороговым значением концентрации 150 пг/мл (AUC = 0,94), ПКТ с пороговым значением 5,3 нг/мл (AUC = 0,92).

Анализ холод-индуцированной реактивности у пациентов с рассеянным склерозом

Сиренев И.М., Герасимова Л.И.

*Республиканская больница им. В.А. Баранова, Петрозаводск, Российская Федерация
ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Российская Федерация*

Рассеянный склероз (РС) — хроническое аутоиммунное прогрессирующее заболевание нервной системы, характеризующееся множественными очагами поражения в центральной нервной системе. Общепризнана мультифакториальная природа РС, включая участие вирусных инфекций (ретровирус, EBV, herpes VI, JC и др.), хронических интоксикаций (бензин, органические растворители), особенностей питания, недостаточности солнечного света (дефицит витамина D) и др. [1]. Отмечено увеличение частоты РС в зонах, удаленных от эк-

ватора, что в Северном полушарии описывается как градиент убывания частоты РС «Север-Юг» [1]. Показана сезонная динамика активности РС [2] и госпитализаций по поводу РС [3]. Несмотря на известное модулирующее влияние климато-географических факторов на заболеваемость РС, роль температурного фактора, в частности охлаждения, в развитии РС изучена недостаточно. В этой связи, целью исследования было изучение роли холод-индуцированной реактивности организма в механизмах прогрессивности РС. Для этого проведен анализ частоты госпитализаций пациентов с РС в зависимости от типов течения и характера экзacerbаций за период 2011–2013 гг., а также выполнена оценка индивидуальной восприимчивости к холоду в группе пациентов РС.

Для анализа отобрано 317 карт стационарного больного пациентов, проходивших лечение по поводу РС на базе неврологического отделения Республиканской больницы им. В.А. Баранова (г.Петрозаводск), за период 2011–2013 гг. Среди пациентов было 212 женщин (67%) и 105 мужчин (33%) возраста от 19 до 67 лет (в среднем 37,3±11,7 года). Диагноз РС соответствовал диагностическим критериям рассеянного склероза по McDonald (2005). В анализируемых данных преобладали пациенты с ремиттирующе-рецидивирующим типом течения (РР), который наблюдался у 59,53% пациентов РС, первично-прогрессивное течение (ПП) выявлено у 2,33%, вторично-прогрессивное (ВП) течение наблюдалось у 38,13%. Ежемесячно определяли общее количество госпитализаций, количество госпитализаций по поводу обострений РС (появление новых очаговых симптомов, что требовало назначения ГКС и/или сеансов плазмафереза) и ухудшений РС (усугубление имеющихся неврологических нарушений, которое было купировано симптоматической терапией), случаи первичной заболеваемости.

Оценку индивидуальной восприимчивости к холоду провели в группе из 20 пациентов РС на основе анализа холод-ассоциированных симптомов (ХАС) [4]. Полученные результаты сравнивали с данными анкетирования пациентов общеневрологического профиля (синдром боли в нижней части спины, полинейропатии, миастения; n = 34), госпитализированных на лечение в неврологическое отделение Республиканской больницы им. В.А. Баранова. Анализ включал оценку структуры ответов с последующим сравнением ответов, полученных от пациентов в различных группах, с использованием непараметрических критериев оценки. Достоверными считались результаты при уровне значимости $p < 0,05$.

Исследование частоты госпитализаций показало, что в осенние и зимние месяцы наблюдается увеличение поступлений в стационар пациентов с РС, которое составило в среднем 10–12 пациентов в месяц. В весенние и летние месяцы данный показатель снижается до 5–8 пациентов в месяц ($p < 0,05$). Поступление по поводу обострений РС составило в среднем 58 случаев в год. Наибольшая частота госпитализаций по поводу обострений РС наблюдалась в период с сентября по февраль (6–7 случаев в месяц). Частота госпитализаций по поводу ухудшения РС составила в среднем 38 случаев в год. Наибольшая частота госпитализаций по поводу ухудшения РС наблюдалась в период с июня по август (в среднем 8–9 случаев), когда наблюдаются макси-

мальные значения температуры воздуха и уровня инсоляции на территории Республики Карелия. Анализ госпитализаций пациентов с различным типом течения РС показал, что в холодный период года среди поступающих пациентов преобладают больные с РР типом течения РС, в теплые месяцы (с июня по август) возрастает количество пациентов с прогрессивными формами течения РС (ПП и ВП). Данное соотношение можно объяснить с позиции двухфазной модели патогенеза РС [1]. При РР типе течения наблюдается высокая воспалительная активность, которая коррелирует с колебаниями уровня провоспалительных цитокинов вследствие сезонной циркуляции возбудителей инфекционных заболеваний [1, 2], в то время как прогрессивный тип течения РС формируется на основе нейродегенеративного процесса, протекающего без выраженного воспаления [1]. За трехлетний период выявлено 53 первичных случаев заболеваемости РС, отмечено повышение случаев первичной заболеваемости РС во второй половине года, начиная с июня [3].

Анализ индивидуальной восприимчивости к воздействию холода, проведенный в данном исследовании, также как и результаты предыдущего исследования [4], показал в целом высокую восприимчивость к холоду в группе пациентов неврологического профиля. Большинство опрошенных в группе РС из 13 возможных ХАС имели два и более признака, в то время как больные общеневрологического профиля в большинстве указывали на 1–2 ХАС. В группе РС наиболее часто встречались феномен Рейно, дизурические расстройства, боли в мышцах и суставах, появляющиеся при действии холода. В общеневрологической группе преобладали симптомы холодого ринита и холодовой парестезии. Большая часть опрошенных (70%) общеневрологических больных отметили низкую переносимость холодого воздействия в связи со значительным дискомфортом, 30% опрошенных отметили умеренный или незначительный дискомфорт при действии холода. В группе пациентов РС низкая переносимость холодого воздействия выявлена у 75% опрошенных.

Таким образом, изменение общего количества госпитализаций, частота различных форм экзacerbаций РС и типов течения РС носит сезонный характер, что свидетельствует о выраженном модулирующем влиянии климато-географических условий Республики Карелия на механизмы развития РС. Выявленная высокая индивидуальная восприимчивость к холоду в группе пациентов РС предполагает участие механизмов холод-индуцированной реактивности в формировании клинических признаков РС в условиях северного климата, что требует дальнейшего исследования патогенетических механизмов.

Список литературы

1. Шмидт Т.Е., Яхно Н.Н. Рассеянный склероз. — М.: Медпресс, 2012. — 272 с.
2. Meier D.S., Balashov K.E., Healy B. Seasonal prevalence of MS disease activity // *Neurology*. — 2010. — Aug. 31. — Vol. 75(9). — P. 799–806.
3. Сиренев И.М., Герасимова Л.И. Частота госпитализаций пациентов с рассеянным склерозом в различные сезоны года в Республике Карелия // *Вестник Уральской медицинской академической науки*. — 2014. — №2. — С. 44–46.
4. Герасимова Л.И. Частота холод-ассоциированных симптомов у пациентов с терапевтической патологией // *Вестник РУДН. Серия Медицина*. — 2003. — Т. 24. — С. 61–65.

Иммунологические показатели в оценке риска развития манифестного психотического приступа

Сарманова З.В., Омельченко М.А., Каледа В.Г., Зозуля С.А., Отман И.Н., Ключник Т.П.

ФГБУ «Научный центр психического здоровья» РАМН, Москва, Россия

В настоящее время выделение групп высокого риска по развитию манифестного психотического приступа среди пациентов с непсихотическими психическими расстройствами (НПР) проводится на основе анализа имеющихся у пациентов психопатологических расстройств и наследственной отягощенности. Основываясь на полученных ранее данных о вовлеченности иммунных реакций в развитие острых психозов, мы предположили, что в качестве дополнительных объективных маркеров предикции манифестного приступа могут выступать маркеры воспаления и аутоиммунных реакций.

Цель работы — определение ряда воспалительных и аутоиммунных маркеров (энзиматическая активность ЛЭ, функциональная активность $\alpha 1$ -ПИ, уровень аутоантител к нейроспецифическим антигенам S-100 и основному белку миелина ОБМ) в сыворотке крови пациентов с НПР во взаимосвязи с изменением их психопатологической симптоматики в ходе проводимой терапии.

Материалы и методы. Обследовано 65 пациентов мужского пола юношеского возраста с непсихотическими психическими расстройствами: с расстройствами настроения (F31.3, F31.4, F32 (кроме F32.2), F33 (кроме F33.3), F34.); с расстройствами личности (F60) и с пизотипическим расстройством (F21). Группу сравнения составили 124 пациента мужского пола юношеского возраста с острым манифестным приступом психоза (ОМП). В контрольную группу вошли 30 психически и соматически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту с группами пациентов. Психопатологическая оценка состояния пациентов проводилась с использованием шкал SOPS и HAM-D. Определение энзиматической активности ЛЭ и функциональной активности $\alpha 1$ -ПИ проводили спектрофотометрическими методами, определение уровня аутоантител к нейроантигенам — методом иммуноферментного анализа.

Результаты и обсуждение. Показано, что повышение активности ЛЭ и $\alpha 1$ -ПИ по сравнению с контролем характерно не только для группы пациентов с ОМП, но и для группы пациентов с НПР ($p < 0,001$). Вместе с тем активность ЛЭ в группе с ОМП достоверно выше по сравнению с группой с НПР ($p < 0,001$). Лишь для группы с ОМП было выявлено повышение среднего уровня аутоантител к ОБМ по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Для группы с НПР только у 17% пациентов было выявлено повышение уровня аутоантител к нейроспецифическим антигенам по сравнению с контролем ($p < 0,05$), а также у этих же пациентов результаты по шкалам SOPS и HAM-D достоверно превышали значения в общей группе ($p = 0,03$ и $p = 0,005$ соответственно). Таким образом была выявлена активация воспалительных реакций (по активности ЛЭ, $\alpha 1$ -ПИ) у пациентов с НПР, однако ее степень достоверно ниже, чем в группе с ОМП.

Детальный анализ выявил гетерогенность группы пациентов с НПР по уровню иммунологических показателей, в этой группе были пациенты с иммунологическими показателями как близкими к контрольным, так и приближающимися к уровню показателей пациентов с манифестным

расстройством. Поскольку активность ЛЭ и уровень аутоантител, как было показано ранее, могут отражать активность патологического процесса в мозге, закономерно предположить, что пациенты, имеющие высокие значения изученных иммунологических показателей на момент поступления в стационар, могут быть отнесены к группе риска по развитию психотического приступа. Однако необходимо учитывать и реакцию больных на лечение.

По результатам повторного обследования группа пациентов с НПР оказалась гетерогенной и по особенностям динамики иммунологических показателей: у большинства (80%) пациентов с повышенными показателями до лечения, наблюдалось достоверное снижение активности ЛЭ и приближение ее к нормальным значениям ($p = 0,007$). У остальных (20%) пациентов наблюдалось повышение активности ЛЭ ($p = 0,005$). В этих случаях, несмотря на улучшение клинических показателей к периоду выписки из стационара, речь, вероятно, может идти о терапевтической ремиссии низкого качества, а не о затухании патологического процесса. Это дает основание отнести таких больных к группе риска по развитию манифестного психоза.

Список литературы

1. Ключник Т.П., Зозуля С.А., Андросова Л.В., Сарманова З.В., Отман И.Н., Дупин А.М., Абрамова Л.И., Столяров С.А., Шишилова Е.С., Борисова О.А. Иммунологический мониторинг эндогенных приступообразных психозов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2014. — Т. 114, №2. — С. 31–35.
2. Ключник Т.П., Омельченко М.А., Сарманова З.В., Зозуля С.А., Отман И.Н., Дупин А.М., Каледа В.Г. Возможность использования иммунологических показателей для оценки риска развития эндогенных психозов у больных с непсихотическими расстройствами юношеского возраста // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2014. — №10. — С. 60–64. — В печати.

Innovative approaches towards neurodegenerative disease treatment

Sewell R.D.E.¹, Gruden M.A.², Sherstnev V.V.², Morozova-Roche L.A.³

¹ — Cardiff School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Cardiff University, Cardiff, UK.

² — P.K. Anokhin Institute for Normal Physiology, RAMS, Moscow, Russia

³ — Umea University, Umea, Sweden

Neurodegenerative illnesses such as Alzheimer's disease (AD) and Parkinson's disease (PD) are essentially protein misfolding disorders involving oligomeric species and fibrillar components leading to dysfunctional neurochemistry and neuroimmunology. Both pathologies present as a common form of dementia associated with age and family history. They are distinguished from other related forms of dementia at the postmortem stage when amyloid aggregates can be observed in the brain. Various molecular mechanisms underlie AD/PD neuropathology: developing amyloidogenic species of A β peptide/ α -synuclein, disbalance within neurotransmitter systems, disruption of neurotrophic regulation as well as neuroinflammatory and autoimmune reactions to functional brain molecules. A notable drug treatment approach for AD has been based on cholinesterase inhibition, which symptomatically reduces some aspects of the disease for a period of time. In the case of PD, several drug strategies are employed. A commonly utilized PD medication is Levodopa, a natural precursor chemical that passes into the brain and is converted to dopamine. It is frequently combined with agents capable of

preventing the breakdown of brain dopamine by inhibiting the metabolizing enzyme monoamine oxidase B (MAO-B). An allied therapeutic manoeuvre involves the use of catechol O-methyltransferase (COMT) inhibitors which moderately prolong the effect of levodopa therapy by blocking another enzyme that breaks down dopamine. However, these drugs, in addition to agonists directed at the dopaminergic system, offer only symptomatic relief but do not target the amyloidogenic protein components which are important contributory neurotoxic elements not only in PD but also other degenerative diseases including AD. In recent years, other therapeutic strategies have stemmed from the above molecular mechanisms involving AD pathology: (i) increased understanding of amyloidogenesis has prompted the design and development of small molecules that bind directly to amyloidogenic proteins, inhibit enzymes involved in the amyloidogenic pathway or destabilize ubiquitous components of fibrils thus disfavoured their formation. (ii) Excessive activation of NMDA receptors is thought to mediate the calcium-dependent neurotoxicity associated with AD and in light of this, NMDA antagonists have therefore been considered to have therapeutic potential. (iii) Since neurotrophins display profound neuromodulatory functions and are essentially involved in the survival and homeostatic maintenance of central and peripheral neurons during development and adulthood, they may be used potentially for therapeutic interventions in AD. Furthermore, development of a drug with combined neurotrophic and nootropic properties would be beneficial in this respect. (iv) Immune therapeutic approaches have attracted attention by virtue of a capability to reduce toxic oligomeric species of specific proteins involved in both AD and PD pathology. Combinative therapeutic strategies may thus be a future possibility for improved effectiveness at various stages of AD or PD progression, but in order to maximize this tactic, it is contingent upon early diagnosis of the disease.

Гипотетическая модель патогенеза нейроинфекций

Скрипченко Н.В., Алексеева Л.А., Мазаева Е.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург

Нейроинфекции у детей остаются самой инвалидизирующей патологией, несмотря на появление современных технологий диагностики и лечения. Это обуславливает актуальность уточнения патогенетических механизмов их развития. **Цель данного исследования** — представить гипотетическую модель патогенеза нейроинфекций на основании комплексного изучения цитокинов и белков острой фазы воспаления в цереброспинальной жидкости у детей с различными нейроинфекциями. Под наблюдением находилось 114 пациентов в возрасте от 1 месяца до 17 лет с различными нейроинфекциями (42 ребенка с бактериальными гнойными менингитами, 52 чел. — с серозными менингитами, 20 чел. — с вирусными энцефалитами и 23 чел с ОРИ, синдром менингизма — составили группу сравнения). Всем пациентам проводили стандартное исследование ЦСЖ, а также исследовали в ЦСЖ уровень провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) методом твердофазного

иммуноферментного анализа и белки острой фазы воспаления, такие, как альбумин, альфа1-антитрипсин, альфа2-макроглобулин, трансферрин, гаптоглобин, СРБ методом количественной иммунотурбидиметрии. Исследование проводилось в острый период и период ранней реконвалесценции (на 5 сутки при бактериальных гнойных менингитах, на 10-14 сутки при серозных менингитах, при энцефалитах только при поступлении). Доказано, что содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в ЦСЖ в острый период нейроинфекций зависит от нозологической формы заболевания, а характер динамики цитокинов и белков острой фазы в ЦСЖ при бактериальных гнойных менингитах коррелировал со степенью тяжести заболевания. На основании литературных данных (Макаров А.Ю., 2009; Ishiguro A., 1997; K. Edmond, A. Clark, V.S. Korczakye et al., 2010) и собственных исследований (Скрипченко Н.В., 2011; Алексеева Л.А., 2010; Железникова Г.Ф., 2008) представлена гипотеза патогенеза нейроинфекций: при нейроинфекциях патологический процесс происходит как в крови, так и в ЦСЖ, куда патогенные факторы попадают через гематоэнцефалический барьер. В результате бактериальной или вирусной инвазии через слизистые назофарингеального тракта и последующей бактериемии, токсемии или вирусемии повышается проницаемость гематоэнцефалического барьера. Попадая в интратекальное пространство, микробы, вирусы и их факторы патогенности оказывают активирующее влияние на эндотелий мозговых сосудов, периваскулярные макрофаги мозга, клетки астроглии, микроглии и эпендимы, которые начинают продуцировать про- и противовоспалительные цитокины. С одной стороны, провоспалительные цитокины, такие, как ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , активируют эндотелиальные клетки, секретирующие полипептиды, подобные тромбоцитарному фактору роста, избыточная продукция которых приводит к диссеминированной внутрисосудистой коагуляции, стимулируют синтез белков острой фазы воспаления, а ИЛ-6 индуцирует реакцию острой фазы воспаления, ИЛ-8 — повышает хемотаксис полиморфноядерных нейтрофилов, активирует синтез ими молекул адгезии. С другой стороны, эти же цитокины регулируют неспецифическую защиту и специфический иммунитет, усиливают пролиферацию CD4 клеток, рост и дифференцировку В-клеток. Степень активации этих цитокинов в острый период заболевания определяет ход патологического процесса. Параллельно с интратекальным синтезом провоспалительных цитокинов, идёт выработка противовоспалительного цитокина — ИЛ-10, который оказывая супрессорное влияние на все провоспалительные цитокины, повышает жизнеспособность нейронов и клеток глии, тем самым осуществляя нейропротективное действие. Одновременно происходит синтез регуляторного цитокина ИЛ-4, подавляющего активность макрофагов и процесс биосинтеза цитокинов — ИЛ-1 β , ФНО, ИЛ-6, оказывая противовоспалительный эффект. Следствием интратекального выраженного цитокинового дисбаланса является модуляция интратекального воспалительного процесса, гиперсекреция ЦСЖ, развитие эндотелиальной дисфункции, церебрального васкулита и ОГМ, что приводит к снижению церебрального кровотока и мозговой дисфункции, нарастанию лактата и активации патологического апоптоза, вторичной гибели нейронов. При нейроинфекциях, наряду с

интратекальным цитокиновым дисбалансом, при поражении ГЭБ, отмечается проникновение в забарьерную область белков острой фазы воспаления, которые в основном синтезируются в печени и являются универсальными маркерами тканевого поражения. СРБ выполняет как защитную функцию, так и иммуномодулирующую, отражая тяжесть воспалительного процесса. Альфа1-антитрипсин, попадая в интратекальное пространство, ингибирует протеолитические ферменты, а альфа 2- макроглобулин, помимо этого, участвует в регуляции иммунных реакций, трансферрин обладает бактерицидным эффектом. Повышенная проницаемость ГЭБ и потеря его селективности также обуславливает проникновение в ЦСЖ высокомолекулярных белков сыворотки крови, таких как гаптоглобины типа Нр 2-1, Нр 2-2, оказывающих выраженное антиоксидантное действие, проявляющих бактериостатические свойства. Следствием поступления белков острой фазы воспаления в ЦСЖ является активация противовоспалительных и репаративных процессов в интратекальном пространстве, однако их выраженность определяется характером нейроинфекционного заболевания и его этиологией, что подтверждено в данном исследовании. Наличие достоверных корреляционных связей между цитокинами, белками острой фазы воспаления в ЦСЖ и тяжестью клинических проявлений в остром периоде нейроинфекций позволяет утверждать их высокую значимость в формировании характера течения заболевания. Проведённые исследования свидетельствуют о важной роли иммунного и биохимического дисбаланса в ЦСЖ в генезе нейроинфекций, что определяет тактику дифференциальной диагностики и прогноза заболевания.

Дифференциальная клиничко-лабораторная характеристика рассеянного склероза и диссеминированных энцефаломиелитов у детей

Скрипченко Н.В.¹, Иванова Г.П.¹, Суровцева А.В.¹, Евдошенко Е.П.², Скрипченко Е.Ю.²

¹ — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург
² — Городской центр рассеянного склероза СПб. ГБУЗ ГКБ №31

Рассеянный склероз (РС) и диссеминированные энцефаломиелиты (ДЭМ) являются часто трудно дифференцируемыми формами воспалительных демиелинизирующих заболеваний у детей, исход которых может варьировать от выздоровления до прогрессирования и инвалидизации [1–3]. **Цель работы:** выявить клиничко-лабораторные дифференциально-диагностические особенности РС и ДЭМ у детей.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 314 детей с ДЭМ и 51 ребенок с РС в остром периоде и в катамнезе в течение 1–10 лет за период 2001–2014 гг. Этиологическая диагностика включала методы ИФА, ПЦР, иммуноцитохимии с исследованием ЦСЖ, сыворотки крови и лимфоцитарной взвеси на герпесвирусы 16 типов (HHV-1-2, VVZ, CMV, EBV, HHV-6), tick born encephalitis virus (TBEV), B. burgdorferi s.l. (B.b.), Parvovirus B19, Enterovirus (EV), Rubella virus, Chlamydia spp, Mycoplasma spp. Исследовалась ЦСЖ и кровь методом изоэлектрофокусирования с определением олигоклональных полос IgG и индекса интратекального синтеза IgG. В

ЦСЖ определялись ЦИК и основной белок миелина (ОБМ), цитокины (ИФН- γ , ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- α). В сыворотке крови — антитела М, G к ОБМ и индекс сенсибилизации лимфоцитов в РБТЛ к ОБМ, общий IgE, содержание гормонов: кортизола, соматотропного (СТГ), прогестерона (ПГ), эстрадиола, тестостерона, лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ). МРТ головного и/или спинного мозга проводилось на аппарате 1,5–3,0 Тесла.

Результаты. Возраст детей с ДЭМ составил от 1 года до 17 лет, а в 72% был старше 7 лет. Возраст детей с РС — от 9 до 17 лет, а в 91% — от 13 до 17 лет. В 56% случаев при ДЭМ наблюдалось острое течение с развитием одного клинического эпизода, у 20% — затяжное с 1–2 обострениями в течение первых 3 месяцев после манифестации, а в 24% — хроническое течение с обострениями через 6 мес. и более после первого эпизода или постепенным прогрессированием. Клиническая картина в 18% случаев сопровождалась развитием клиники отека головного мозга, что было характерно при локализации очаговых изменений в кортикально-субкортикальных отделах и таламусах. В 76–45% — мозжечковыми, пирамидными и чувствительными нарушениями, в 39% — расстройством краниальных нервов, в 15% — высших корковых функций. Для РС было характерно развитие клиники ретробульбарного неврита в 68% случаев. Исходом ДЭМ у детей при остром и затяжном течении было выздоровление с дефицитом или без него, тогда как при хроническом течении в 50% — положительная динамика и стабилизация, в 6% — выздоровление, а в 44% — обострения с трансформацией в РС. Среди этиологических агентов ДЭМ в 86% выявлялись вирусные, а в 14% — бактериальные возбудители. При остром течении с клиникой поражения серого вещества доминировали вирус TBEV, EV, HHV-1. При поражении белого — герпесвирусная инфекция VVZ, EBV, HHV-6 и B.b. У детей с РС микст-герпесвирусная инфекция с обнаружением ДНК и/или антигенов вирусов (EBV+HHV-6) в ЦСЖ в ремиссию составила 10–15%, а при обострении достигала 60–65%. Картина МРТ у детей с ДЭМ определялась характером течения болезни. Количество очагов при остром течении в 86% не превышало 5, а 78% они наблюдались только в головном мозге, в 16% выявлялся одиночный очаг, а в 5% — диффузное поражение структур головного мозга. При затяжном течении наличие 5–7 очагов выявлено в 84% случаев с локализацией в белом веществе ЦНС. У больных с хроническим течением очаги не имели дифференциально-диагностических параметров, отличающих их от детей с РС. Для детей с РС количество очагов в 89% случаев было более 10, а в 93% случаев с локализацией только в белом веществе головного и спинного мозга. Очаги имели различную степень давности развития. В отличие от ДЭМ очаги при РС, как правило, незначительно уменьшались в процессе лечения, а обострения болезни приводило к появлению новых очагов. У 76–63% детей с острым и затяжным течением в ЦСЖ выявлялся смешанный или лимфоцитарный плеоцитоз до 300–400 кл. 1 мкл, тогда как для хронического течения при обострении количество клеток составило в среднем 35+5 клеток в 1 мкл, а в ремиссию не превышало норму. У детей с острым и затяжным течением ДЭМ в ликворе определялся поликлональный тип иммунного ответа, а при хроническом — олигоклональный в крови и ликворе. У детей с РС выявлялись олигоклональные полосы в лик-

воре и поликлональный ответ в крови. У детей с острым течением ДЭМ повышался альбуминовый индекс $\sim 2,4$ раза по сравнению с нормой и хроническим течением, свидетельствующий о нарушении ГЭБ. Тогда как у детей с РС отмечалось увеличение индекса интраклеточного синтеза IgG максимально до $9,6-10,7$, достоверно выше, чем в группе с хроническим течением ДЭМ ($5,5 \pm 0,8$, $p < 0,001$). Минимальное повышение ОБМ в ЦСЖ наблюдалось у пациентов с острым течением ДЭМ, что свидетельствует о незначительно выраженном процессе демиелинизации с минимальным разрушением миелина при остром течении. У детей с хроническим течением ДЭМ отмечались максимально высокие показатели ОБМ в ЦСЖ с повышением более 9 нг/мл в 82% случаев. При РС отмечалось как повышение ОБМ в ЦСЖ, так и увеличение индексов гуморальной и клеточной сенсибилизации к ОБМ в 2–3 раза по сравнению с нормой и нарастающие в динамике болезни. При исследовании цитокинового иммунного ответа в ЦСЖ также были выявлены различия. Так, при остром течении ДЭМ отмечалось нормальное содержание ФНО- α при слегка повышенном уровне ИЛ-10, высокие концентрации цитокина Th1 – ИФН- γ (индекс ИФН- γ /ИЛ-4 ~ 19). Затяжное течение было ассоциировано со значительным подъемом в ЦСЖ ФНО- α и ИЛ-4 при умеренном содержании ИФН- γ (индекс ИФН- γ /ИЛ-4 $\sim 0,7$). Хроническое течение ДЭМ сопровождалось выраженным дисбалансом в содержании иммунных факторов ЦСЖ. Пациенты этой группы имели в ЦСЖ самый высокий уровень ФНО- α при отсутствии антивоспалительного цитокина ИЛ-10 и дефиците ИФН- γ (индекс ИФН- γ /ИЛ-4 $\sim 0,1$). Схожие изменения с хроническим течением ДЭМ по продукции цитокинов были выявлены при РС. Кроме того, только при хроническом течении ДЭМ и РС отмечалось повышение ЦИК в ЦСЖ. Среди гормонов-стресса при хроническом ДЭМ и РС наблюдалось отсутствие увеличения уровня кортизола и повышение СТГ по сравнению с возрастной нормой. Исследование уровня половых гормонов у детей старше 11 лет выявило, что дисбаланс с нарушением их содержания в крови при ДЭМ наблюдался в 15–24% случаев, а у детей с РС в 73%. Выявлены достоверные различия по содержанию ПГ в крови у лиц обоего пола при РС и ДЭМ ($p < 0,001$). Заключение. Таким образом, при дифференциальной диагностике ДЭМ и РС необходимо учитывать: возраст дебюта с наличием ретроульбарного неврита и отсутствием симптомов поражения коры и подкорковых структур, многоочаговость поражения белого вещества головного и спинного мозга, повышение индекса интраклеточного синтеза IgG до $9,7-10$ и наличие олигоклональных полос IgG в ЦСЖ и поликлонального ответа в крови, увеличение уровня ОБМ (более 9 нг/мл) и ЦИК в ЦСЖ, нарастание в динамике гуморального и клеточного аутоиммунного ответа к ОБМ, низкое содержание прогестерона в крови ниже $2,0$ пкмоль/л, а также выявление микст-герпесвирусной инфекции (EBV+ИИВ-6). Можно предположить, что течение демиелинизирующего процесса, риск трансформации одного заболевания в другое определяются особенностями иммунного ответа, связанными с нейроэндокринными перестройками, а также с инфицированием определенными вирусными агентами. Важное значение в регрессе и замедлении прогрессирующей болезни имеет проводимая терапия.

Список литературы

1. Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Иванова Г.П., Команцев В.Н. Диссеминированный лейкоэнцефалит и рассеянный склероз: причинно-следственная взаимосвязь // Саратовский научно-медицинский журнал. — 2013. — Т. 9, №2 — С. 170–178.
2. Krupp L.B., Banwell B., Tenenbaum S. For the international Pediatric MS Study Group. Consensus definitions proposed for pediatric multiple sclerosis and related disorders // Neurology. — 2007. — Vol. 68 (Supp. 2). — P. 7–12.
3. Iknur Erol et al. Acute Disseminated Encephalomyelitis in Children and Adolescents: A Single Center Experience // Pediatric Neurology. — 2013. — Vol. 49. — P. 266–273.

Иммунология вакцинального процесса у детей с неврологическими нарушениями

Скрипченко Н.В., Каплина С.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций» Федерального медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

Цель исследования: изучение иммунологической реактивности у детей с неврологическими нарушениями при вакцинации различными неживыми и живыми вакцинами для разработки безопасной тактики иммунизации.

Материалы и методы. Обследовано 358 детей с различными последствиями перинатального поражения ЦНС и 76 здоровых детей группы сравнения (ГС), в возрасте от 3 мес. до 6 лет, проживающих в домах ребенка №12 и 13 Санкт-Петербурга. Определяли субпопуляции лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95 методом проточной цитометрии, уровень цитокинов ИЛ1 β , ИЛ4, ИЛ6 методом ИФА, содержание иммуноглобулинов (ИГ) классов А, М, G турбодиметрическим методом, ИГ Е методом твердофазного ИФА. Все дети были привиты против дифтерии (АДС-анатоксином, АКДС, Инфанрикс, Пентаксим) и кори (моновакцина, дивакцина, Приорикс). Поствакцинальный период оценивали как гладкий (с развитием поствакцинальных реакций либо бессимптомный) или осложненный (при присоединении интеркуррентных инфекций и обострении основного заболевания в течение месяца после прививки). За проявлением местных и общих реакций наблюдали в течение 1–3 дней после вакцинации неживыми вакцинами и с 5 по 14 дни при иммунизации живыми вакцинами. Общие реакции оценивали как слабые (повышение температуры до $37,5^{\circ}\text{C}$ и отсутствие симптомов интоксикации), средней силы (повышение температуры до $37,5-38,4^{\circ}\text{C}$ и умеренно выраженные симптомы интоксикации) и сильные (повышение температуры выше $38,5^{\circ}\text{C}$ и выраженные кратковременные симптомы интоксикации). При отсутствии температуры и других клинических проявлений вакцинальный процесс считали бессимптомным. Для оценки эффективности вакцинации через 1 мес. и более после 3- или 4-кратного введения вакцины АКДС, АДС, Инфанрикс, Пентаксим у детей определяли титры антител дифтерии в РПГА стандартным методом (лаборатория микробиологии отдела микрореологии человека НИИ детских инфекций, зав. профессор А.С. Кветная). После введения моно(ди)вакцины или Приорикса антитела против кори и паротита — методом ИФА (лаборатория отдела вирусологии и молекулярно-биологических методов исследования НИИ детских инфекций, руководитель д.б.н. Е.А. Мурина). Защитными титрами противодифтерийных антител являлись

титры 2,32 log₂, противокоревых — более 0,20 МЕ/мл, противопаротитных — более 0,352 о.е.

Результаты. Анализ исходного иммунного статуса позволил выявить у детей общие иммунологические группы при различных неврологических нарушениях: *1-я группа* — n = 96, с минимальной церебральной дисфункцией и задержкой психомоторного развития (F90, F80-83, Q90). Дети имели бессимптомное течение вакцинального процесса и слабые нормальные вакцинальные реакции вне зависимости от используемой вакцины, осложненное течение в виде нетяжелых ОРИ, в иммунном статусе снижение субпопуляций CD3+% 41,03±1,28 (ГС 63,0±8,9); CD4+% 24,01±1,19 (ГС 35,2±2,1); CD8+% 15,75±1,13 (ГС 28,8±2,1); CD20+% 18,65±1,16 (ГС 21,3±0,77), а также иммуноглобулинов IgG и IgM, что является условием для наложения бактериальных инфекций при ОРЗ. *2-я группа* — n = 90, с гипоксическим-ишемическим поражением ЦНС имели выраженные вакцинальные реакции (чаще на АКДС), осложненное течение — ОРИ и обострение основного заболевания. В иммунном статусе отмечено повышение лимфоцитов до 59,5±3,79 (ГС 47,1±1,8) и их субпопуляций — CD3+% 70,0±2,1; CD8+% 30,0±3,77; CD16+% 19,75±2,03 (ГС 12,2±0,92); CD20+% 33,0±7,88; CD25+% 44,0±4,26 (ГС 13,2±0,71), интерлейкина IL4 (38,4±1,6), что говорит о напряженном состоянии иммунной системы. *3-я группа* — n = 172, с тяжелым органическим поражением ЦНС (ДЦП G80 n = 37, эпилепсия G40 n = 45, энцефалопатия G93.4, G92, F07.8 n = 90) давали слабые нормальные вакцинальные реакции, осложненное течение в виде вирусно-бактериальных и бактериальных инфекций. В иммунном статусе дисбаланс клеточного и гуморального иммунитета — снижение субпопуляций CD3+% (29,0±3,6) и CD4+% (29,5±0,4) на фоне активации маркеров апоптоза (CD95+% 29,0±2,7), а также повышение IgA, IgM, IL1 и IL6. Данные особенности сохранялись в течение всего вакцинального периода при введении живых и неживых вакцин. На 30–45 дни дифтерийного вакцинального процесса для 1-й и 3-й групп выявлено снижение числа всех субпопуляций лимфоцитов и поздняя активация иммунного ответа (у 3-й группы с нормализацией к 30 дню), для 2-й группы увеличение CD3+, CD4+, CD16+, CD20+ и дисбаланс CD4+/CD8+ к 14 дню вакцинации. Для коревого вакцинального процесса отмечено повышение CD3+, CD4+, CD8+, CD20+ к 14 и 30 дню в группе 1 и 2, повышение CD3+, резкое снижения В-лимфоцитов, CD4+ и CD8+ клеток к 14 дню и медленное выравнивание к 30 дню вакцинального периода в группе 3. В ГС существенных иммунологических сдвигов не было.

У всех привитых против дифтерии сформировались защитные титры антител (в среднем 8,15±1,25 log₂), различия в уровне антител при вакцинации АКДС и Инфанриксом/Пентаксимом не обнаружено. Дети с перинатальной патологией сформировали титры (6,82±0,97 log₂), в среднем значении меньше, чем дети с грубой неврологической патологией (7,82±0,72 log₂) и здоровые (9,12±0,92 log₂). Уровень антител к кори составил в среднем 0,88±0,11 МЕ/мл, к паротиту 0,62±0,06 о.е. Тенденция к формированию более высоких среднегеометрических титров к паротиту отмечена у детей, получивших дивакцину (5,69±0,24 log₂), чем при использовании Приорикса (4,92±0,21 log₂). В группе детей с эпилепсией и ДЦП уровень противокоревых антител был не меньше, чем в группе сравнения (3,08±0,49 log₂, в ГС 5,88±0,31), противопаротитных 0,72±0,49 о.е (в ГС 0,63±0,30).

Заключение. Дети 1-й группы имеют позднюю активацию Тх1и Тх2-звеньев иммунного ответа и гипои иммунный вариант реагирования на вакцины. Дети 2-й группы имеют быструю активацию клеточного ответа к 14 дню иммунизации и гипериммунный вариант реагирования на вакцины. Дети 3-й группы дают подавление клеточного ответа к 14 дню, восстановление к 30 дню после иммунизации и смешанный вариант реагирования на вакцины. Наличие неврологической патологии существенно не влияло на уровень антител к кори и паротиту, хотя у детей с патологией ЦНС имеется тенденция к формированию более низких титров антител к паротиту (в 1,2 раза) по сравнению со здоровыми детьми. Таким образом, различные исходы перинатальной гипоксии имеют свои иммунологические характеристики, что может быть использовано для прогнозирования иммунологической реактивности у каждого конкретного ребенка и основой при назначении индивидуальной иммунопрофилактики.

Список литературы

1. Зверев В.В., Юминова Н.В. Эффективность вакцинации против кори и эпидемического паротита // Вакцинация. — 2000. — №11(5). — С. 10–11.
2. Каткова И.В., Субботина Т.В., Тафановская З.А. Состояние иммунитета к дифтерии и столбняку // Проблемы профилактической медицины. — 2000. — Вып. 3. — С. 22–31.
3. Николаенко В.Н. Сдвиги в системе иммунокомпетентных клеток у людей, иммунизированных различными вакцинальными препаратами: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 1990. — 22 с.
4. Харсеева Г.Г., Москаленко Е.П., Федорук С.И. и др. Противодифтерийный иммунитет у детей после вакцинации АКДС-вакциной и АДС-М-анатоксином // Журнал Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2006. — №1. — С. 67–69.

Аутоантитела к нейрофункциональным белкам мозга и их роль в повреждении и защите нейронов от гипоксического стресса

Сорокина Е.Г.¹, Реутов В.П.², Семенова Ж.Б.³, Пинелис В.Г.¹

¹ — ФГБНУ «Научный центр здоровья детей РАМН»

² — ГУ Институт Высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

³ — ФГБУ НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва

Антитела, направленные против собственных антигенов, были обнаружены при многих неврологических заболеваниях, получивших название «autoantibody-associated neurological disorders, AAND» [1]. В настоящее время к ним можно отнести эпилепсию и посттравматическую болезнь в результате черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Представления о роли аутоиммунных процессов при ЧМТ возникли еще в последней трети XX в. Именно тогда были выдвинуты предположения о том, что иммунологические механизмы могут в одних случаях облегчать течение травмы, а в других — вызывать отек мозга и другие его повреждения. Одним из наиболее важных факторов, сопровождающих неблагоприятные исходы (ЧМТ), является гипоксия. Повреждение нейронов при гипоксии/ишемии мозга связано с развитием патологических реакций [2], вследствие которых происходит повреждение структурных компонентов рецепторов глутамата и других нейрофункциональных белков, попадание их в кровь через поврежденный ГЭБ, что, в свою очередь, способствует активации аутоиммунных процессов.

В настоящей работе исследовали содержание аутоантител (аАТ) к AMPA и NMDA рецепторам глутамата (Глу), а также аАТ к альфа-7 субъединице рецептора ацетилхолина (АХР) в сыворотке крови детей, перенесших ЧМТ. В эксперименте на культивируемых зернистых клетках мозжечка и гиппокампа крыс изучали действие АТ к срединному и конечному фрагменту AMPA GluR1 рецептора глутамата. В зависимости от тяжести состояния пациентов выделены 2 группы — дети с легкой ЧМТ (ЛЧМТ, 48 детей) и дети с тяжелой ЧМТ (ТЧМТ, 53 детей). Тяжесть ЧМТ оценивали по шкале комы Глазго (ШКГ).

У всех детей отмечен рост в сыворотке крови уровня аАТ как к AMPA-, так и к NMDA-подтипу рецепторов с 1-го по 10-й день после травмы. Наиболее высокое содержание в сыворотке крови наблюдалось для аАТ к NMDA-подтипу рецепторов глутамата и было характерно для детей, перенесших легкую ЧМТ (ЛЧМТ). Содержание АТ к NMDA(NR2) рецепторам у детей, перенесших тяжелую ЧМТ (ТЧМТ), было ниже, чем у детей с ЛЧМТ, при этом наиболее низкий уровень этих АТ отмечался в 1й день после ЧМТ в группе детей с летальным исходом. Таким образом, установлено, что острый период ЧМТ у всех пациентов сопровождается гиперстимуляцией глутаматных рецепторов, преимущественно NMDA-типа [3].

Мы предположили, что у детей, перенесших ЧМТ, среди образующихся аАТ могут присутствовать и аАТ к нейрональным ацетилхолиновым рецепторам (АХР) альфа-7 типа ($\alpha 7$), определение содержания которых должно способствовать изучению патогенеза посттравматического периода. Наши предположения основывались на данных о том, что $\alpha 7$ тип АХР ($\alpha 7$ -АХР) играет центральную роль в регуляции синтеза провоспалительных цитокинов, повышающихся при воспалении, что, как правило, сопровождает острый период ЧМТ и может приводить к когнитивным расстройствам. У детей с легкой ЧМТ не наблюдали увеличения концентрации аАТ к фрагментам АХР со временем, напротив, у 5 детей отмечено падение содержания аАТ к 7-му дню по сравнению с 1-м днем после ЧМТ. У детей с тяжелой ЧМТ отмечено увеличение титра аАТ на 7-й и далее на 21-й и 33-й дни после ЧМТ ко всем фрагментам АХР по сравнению с величинами, полученными в 1-й день после ЧМТ. Наибольший уровень аАТ к АХР обнаружен у больного с вегетативным состоянием. Так, в период с 1 по 38 день после ЧМТ наблюдалось усиление связывания сывороток с АХР. Однако на 365 день (через несколько дней больной умер) титр аАТ упал и сравнялся с контролем. Следовательно, чем тяжелее ЧМТ и более тяжелые повреждения мозга отмечались у пациентов, тем больший рост содержания аАТ к фрагментам $\alpha 7$ - субъединицы АХР в крови наблюдался в первую неделю после травмы [4].

Анализ данных литературы и наши собственные данные позволяют предположить, что само увеличение концентрации аАТ к антигенам мозга может иметь двойственный характер — с одной стороны быть реакцией на повреждение соответствующих структур мозга, с другой стороны, аАТ способны выполнять защитные функции. Поскольку у детей с хорошим исходом и более легкой ЧМТ уровень аАТ к NMDA рецепторам значительно увеличен уже в первые сутки, можно предположить, что подобное раннее повышение может иметь компенсаторный характер, направленный на блокаду рецептора и сниже-

ние его гиперстимуляции. Антитела могут «прикрывать» поверхностные структуры нейронов от лигандов, разрушающих структуру рецепторов или способствовать активации систем внутриклеточной сигнализации, связанных с развитием компенсаторно-приспособительных реакций. В то же время более низкий уровень аАТ у детей с тяжелой ЧМТ и, особенно в группе с неблагоприятным исходом, может указывать на срыв компенсаторных процессов и гибель нейронов.

В эксперименте на культуре нейронов мозга крыс показано, что АТ к различным участкам AMPA (GluR1) рецептора глутамата оказывали разнонаправленное действие на нейроны. АТ к конечному фрагменту GluR1 в концентрации 0,1–1,0 мкг/мл вызывали гибель нейронов мозжечка и усиливали глутамат-индуцированный подъем $[Ca^{2+}]_i$ и деполяризацию митохондрий в нейронах мозжечка. В гиппокампальных нейронах АТ этого типа увеличивали $[Ca^{2+}]_i$ и снижали митохондриальный мембранный потенциал [5]. Напротив, АТ к срединному фрагменту GluR1 субъединицы AMPA рецепторов, добавленные к культивируемым нейронам мозжечка в концентрации 10 мкг/мл вместе с Глу уменьшали количество погибших при гиперстимуляции глутаматом нейронов, способствуя меньшему подъему $[Ca^{2+}]_i$ и его более быстрой отмывке. В отличие от АТ к конечному фрагменту GluR1, эти АТ не оказывали действия на гиппокампаальные нейроны — не увеличивали $[Ca^{2+}]_i$ и не влияли на м. годобный защитный эффект может быть связан с тем, что последние способны блокировать срединные участки AMPA рецептора, в которых происходит связывание глутамата с антителами.

Список литературы

- Archelos J.J., Hartung H-P. Pathogenic role of autoantibodies in neurological diseases // Trends Neurosci. — 2000. — Vol. 23. — P. 317–327.
- Choi D.W. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system // Neuron. — 1998. — 1. — P. 623–634.
- Сорокина Е.Г., Семенова Ж.Б., Реутов В.П., Пинелис В.Г. Аутоантитела к рецепторам глутамата и продукты оксида азота в сыворотке крови детей в остром периоде черепно-мозговой травмы // Ж. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2008. — Т. 208, №3. — С. 67–72.
- Сорокина Е.Г., Вольпина О.М., Семенова Ж.Б. и соавт. Аутоантитела к альфа7-субъединицам нейронального ацетилхолинового рецептора при черепно-мозговой травме у детей // Ж. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. — 2011. — Т. 111, №4. — С. 56–60.
- Сорокина Е.Г., Сторожевых Т.П., Сенилова Я.Е. и соавт. Действие антител к AMPA(GluR1) рецепторам глутамата на нейроны мозга в первичных культурах мозжечка и гиппокампа // Бюлл.эксп.биол. и мед. — 2006. — 7. — С. 59–62.

Работа поддержана грантом Российского гуманитарного фонда №12-06-00943.

Демиелинизирующие поражения ЦНС: от исследований патогенеза к нейроиммунотерапии

*Столяров И.Д., Петров А.М., Вотинцева М.В.,
Никуфорова И.Г., Ивашкова Е.В.*

*Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН,
Санкт-Петербург*

В настоящее время особое место в спектре проблематики теоретической и прикладной нейроиммунологии принадлежит демиелинизирующей патологии ЦНС и, в первую очередь, рассеянному склерозу (РС). Около двадцати

лет нами проводятся исследования по проблеме рассеянного склероза на различных уровнях организации процесса, некоторые результаты изложены в вышедших в 2002, 2008, 2009 гг. руководствах. Оценка повреждения ЦНС при рассеянном склерозе как типичной модели нейроиммунологического патологического процесса проводилась с применением как клинических неврологических, так и радиологических и иммунологических методов. Данный подход позволил одновременно оценивать как системные аутоиммунные нарушения при рассеянном склерозе, так и локальные функциональные и морфологические изменения в центральной нервной системе.

При ремиттирующем типе течения заболевания была установлена прямая зависимость между степенью сенсибилизации к основному белку миелина и антигену нейрональных мембран и степенью нейросенсибилизации к белку S-100 и галактоцереброзидам, а при вторично-прогрессирующем — прямая корреляция между степенью сенсибилизации к мембранозному антигену и галактоцереброзидам. При первом варианте также выявлена прямая взаимосвязь между количеством очагов демиелинизации, количеством перенесенных обострений, длительностью и тяжестью заболевания, количеством и общим объемом очагов демиелинизации и уровнем сывороточного интерферона-гамма. Иная картина наблюдается при вторично-прогрессирующем типе, при котором имеется прямая взаимосвязь между общим объемом очагов демиелинизации и тяжестью (по шкале EDSS), объемом очагов и уровнем интерферона. При обоих типах течения РС нами установлена обратная взаимосвязь между количеством и объемом очагов и нейросенсибилизацией к ОБМ. В ходе выполнения данной работы также показана целесообразность использования специальной компьютерной программы для обработки МРТ-данных, в том числе для подсчета количества и объема очагов демиелинизации.

Существенный вклад в представление о патогенезе рассеянного склероза вносит изучение роли метаболических нарушений в ЦНС в формировании клинической картины заболевания. У более чем 100 пациентов с различными типами течения рассеянного склероза нами проведен анализ регионарных изменений скорости метаболизма глюкозы (СМГ) в сером веществе головного мозга и сопоставление выявленных изменений с неврологической картиной заболевания, у многих пациентов осуществлено динамическое наблюдение. Регионарное снижение СМГ преимущественно в лобной (поля Бродмана 44, 45, 9) и теменной доле (поле Бродмана 40) левого полушария оказалось более выраженным при большей длительности и тяжести заболевания. Отмечена обратная взаимосвязь между тяжестью координаторных нарушений и снижением СМГ в обоих полушариях мозжечка, взаимосвязь между степенью координаторных нарушений и повышением СМГ в латеральной части левой прецентральной извилины. Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) выполнялась как при ремиттирующем РС, так и при прогрессирующих (первично и вторично) типах течения заболевания, что позволило в определенной степени объяснить существующий «клинико-МРТ» парадокс. При прогрессирующих типах РС имеют место значительно более распространенные регионарные изменения метаболизма глюкозы, что свидетельствует о более выраженном вовлечении в патологический процесс коры и подкорко-

вого серого вещества, кроме того, наряду с регионарным снижением метаболизма определяются зоны относительного повышения СМГ. Степень выраженности пирамидных, мозжечковых и чувствительных нарушений при данных типах течения заболевания взаимосвязана с регионарным повышением СМГ в подкорковых ядрах, таламусе и ряде областей коры головного мозга. Наличие указанных взаимосвязей может свидетельствовать о функциональной реорганизации коры и подкоркового вещества головного мозга, компенсаторно развивающейся по мере прогрессирования нейроиммунопатологического процесса при рассеянном склерозе.

Структурные очаговые изменения возникают в белом веществе головного мозга и сопровождаются диффузными атрофическими процессами в целом мозге (тотальная атрофия). Тотальная атрофия головного мозга развивается у пациентов с умеренной инвалидизацией и нарастает у тяжелых больных. Выраженность тотальной атрофии коррелирует со степенью пирамидных, мозжечковых, чувствительных, зрительных нарушений и с тяжестью инвалидизации. При ремиттирующем типе течения рассеянного склероза установлена положительная взаимосвязь тяжести заболевания и когнитивных нарушений. Уже на ранних этапах заболевания обнаружена локальная атрофия мозжечка и чечевицеобразных ядер, которая сопровождается снижением скорости метаболизма глюкозы в обоих полушариях мозжечка и нарастанием координаторных и пирамидных расстройств.

Значительный вклад в клиническую картину рассеянного склероза вносят когнитивные нарушения (КН), которые встречаются уже на ранних этапах заболевания и могут быть одними из первых, а в некоторых случаях, и единственными симптомами начинающейся болезни. До сих пор не найдено объяснения того, какие повреждения ГМ являются первичными в развитии КН при РС, что диктует необходимость исследований ультраструктурных повреждений и изменений функциональной активности мозга. Также остается малоизученным механизм возникновения КН при различных типах течения РС. Показано, что для больных РС характерны когнитивные нарушения в виде снижения объема непосредственной и оперативной памяти, снижения и неустойчивости уровня внимания, замедленности психических реакций, снижения умственной работоспособности и счетных навыков. Нами установлено, что когнитивные нарушения при РС связаны с изменением скорости метаболизма глюкозы в головном мозге в области височной и лобной коры правого полушария у больных с ремиттирующим типом течения заболевания и метаболическими изменениями в области височной коры левого полушария, левого таламуса, правых хвостатого и чечевицеобразного ядер у больных с вторично-прогрессирующим РС.

В изучении рассеянного склероза можно выделить проблемы, которые во многом пытались разрешить на экспериментальном этапе. Несмотря на смену ряда методов исследования — в клинических исследованиях значительно шире используются нейроимиджевые способы оценки (МРТ, ПЭТ и др.), чем электрофизиологические, ключевым в обоих случаях является вопрос об удельном значении диффузных и очаговых поражений. В эксперименте очаговые поражения создаются с помощью микрокоагуляций или криодеструкций, диффузные — возде-

йствием на медиаторные системы мозга или иммунизацией животных комплексом мозговых антигенов.

Ключевым признаком РС является наличие очагов демиелинизации в белом веществе головного и спинного мозга, сопровождающееся формированием бляшек с возможных последующим разрушением аксона. Использование МРТ дает возможность прижизненно описать количество и локализацию этих очагов. МРТ является важнейшим методом диагностики РС, жестко коррелируется с обнаруживаемой неврологом клинической симптоматикой. Несмотря на неспецифический характер обнаруживаемых на МРТ-снимках очагов — реально определяется концентрация воды в зоне, параллельно проведенные патоморфологические исследования доказали, что обнаруживаемые на МРТ гипер- и гипointенсивные зоны у больных РС представляют собой очаги демиелинизации на разных стадиях развития «специфического» воспалительного процесса, заканчивающегося альтерацией — гибелью олигодендроцитов и потерей аксонов. Однако анализ очаговых поражений при РС, делая видимым патологический процесс на доклинической стадии, не дает возможности, несмотря на очевидное стремление исследователей, оценить тяжесть заболевания и сделать прогноз. Очаговые признаки слабо связаны с состоянием иммунной системы.

Выраженность очаговых изменений, как правило, находится вне зависимости от степени диффузных поражений, которые все более привлекают внимание исследователей, описываются диффузные изменения в так называемом «нормальном» белом веществе. Значительный интерес вызывает изучение состояния серого вещества головного мозга. Последние годы характеризуются взрывным ростом исследований в этой области. В ряде работ указывается на возможность того, что поражение серого вещества является первичным, а очаги поражения в белом веществе — бляшки, лишь вершина айсберга.

Ключевой проблемой РС является также исследование новых подходов к иммунотерапии. Доминирующие позиции в современной терапии РС занимает интерфероновые препараты и копаксон, которые показали свою эффективность во многих клинических исследованиях.

Основная цель клинических исследований интерфероновых препаратов — обосновать срок начала проведения терапии при достоверном РС или дозу — при изолированном клиническом синдроме. Исследования показали, что, как правило, эффективность интерфероновых препаратов увеличивается при раннем применении в высоких дозах, кратности применения, больший эффект отмечен от многократного в течение недели применения. Многочисленные клинические исследования пытаются сравнить эффективность интерфероновых препаратов между собой или с копаксоном. Доказана эффективность ранней и высокодозной терапии интерфероновыми препаратами. В то же время высокую эффективность показали клинические исследования пероральных иммуномодуляторов иного механизма действия — финголимода, терифлюномида, лаквинимода и других, что позволило внедрить в рутинную клиническую практику новые препараты, существенно повысить приверженность пациентов к терапии.

Практика фармакотерапии ряда онкологических и аутоиммунных заболеваний стимулировали поиск локального, точечного воздействия на иммунную систему с целью затормозить развитие аутоиммунного патологического процесса. Активно используются антитела к антигенным

детерминантам иммунокомпетентных клеток и медиаторам иммунного ответа, методы генной терапии. Большая социально-экономическая значимость РС двояким образом воздействует на создание новых способов терапии. С одной стороны, в последние годы резко увеличивается количество и обеспеченность клинических исследований, в проведении которых весьма существенный вклад делают ведущие отечественные центры, с другой стороны, ставящаяся организаторами задача ограничена стремлением максимально быстро создать препарат, превосходящий по своей эффективности ранее используемые аналоги. Под эффективностью могут в таком случае понимать воздействие на отдельные проявления заболевания. При подобном редукционализме реальные, лишь частично изученные, механизмы развития заболевания могут подменяться набором очагов, обнаруживаемых МРТ.

В то же время оценка комплексного эффекта препарата осуществляется по клиническим или МРТ параметрам. Иммунологические параметры используются, как правило, для оценки не прямых, а побочных терапевтических эффектов.

По нашему мнению, в настоящее время существует реальная возможность создания принципиально новых способов диагностики и возможностей топического неврологического анализа (фМРТ, спектроскопия, ПЭТ) и преимущественно наиболее специфических для каждого нейроиммунологического заболевания иммунологических трейсеров для обнаружения очагов или зон диффузного поражения.

Существующий опыт создания новых препаратов, влияющих на демиелинизирующий патологический процесс, свидетельствует о необходимости сбалансированной оценки прямого и побочного терапевтического эффекта, проведения специализированных исследований, расширяющих представления о патогенезе демиелинизирующих процессов в ЦНС и, в частности, рассеянного склероза и других нейроиммунологических заболеваний.

Авторы выражают благодарность за возможность использовать для написания тезисов данные сотрудникам лаборатории нейровизуализации ИМЧ РАН. (заведующий лабораторией С.В.Медведев, заместитель заведующего Г.В. Катаева, с.н.с. З.А. Александрия), нейроиммунологи (н.с. А.Г. Ильвес, м.н.с. К.К.Минеев, м.н.с. Г.Г. Шкильнюк), отделения функциональной неврологии (заведующий отделением И.Г. Заволоков, врач Л.Н. Прахова), отделения лучевой диагностики (заведующая отделением Е.А.Громова, врач Ж.И. Савицкая).

Сравнительный анализ негазообменных функций легких в условиях нейродегенерации и патологической активации черной субстанции мозга

Тимофеева М.Р., Лукина С.А.

ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», г.Ижевск, Россия

Известно, что дизрегуляторная патология органов и тканей возникает как при выпадении контролирующих механизмов, так и при их патологическом изменении и усилении [1]. Одним из проявлений дизрегуляторной патологии является нарушение сложноорганизованной системы морфофункциональных связей и нейромедиаторного контроля нигростриатных структур мозга. Их дисфункция является основой патогенеза нейродегенеративных заболе-

ваний, нервно-психических расстройств, висцеропатий, проявляющихся, в том числе, и изменением режима вентиляции легких. Вместе с тем, эффективность работы системы внешнего дыхания зависит не только от газообменной, но и негазообменных функций легких.

Целью исследования было сопоставление характера изменений метаболизма и фракционного состава липидов сурфактанта, кровенаполнения, водного баланса, гемостаз-контролирующей активности легких при дисфункции черной субстанции мозга. Изучение негазообменных функций легких проводили на двух моделях дисфункции структуры: при нейродегенерации черной субстанции и в условиях формирования очага патологической активности. Опыты выполнены на 79 крысах-самцах, в том числе контрольных, ложнопериорированных, с односторонним стереотаксическим введением нейротоксина 6-гидроксидофамина («Sigma») в компактную часть черной субстанции [3, 4], а так же с имплантацией металлического порошка атомарного кобальта («Cobalt met.», Berlin) в ретикулярную часть черной субстанции мозга [2]. Результаты проведенных исследований показали, что оба вида воздействий на структуру приводили к нарушению биофизических характеристик легочного сурфактанта и снижению индекса стабильности альвеол ($p < 0,01$). Ухудшение поверхностно-активных свойств альвеолярных фосфолипидов было связано с уменьшением в их составе фракции фосфатидилхолина и накоплением лизофосфатидилхолина ($p < 0,01$), как при нейродегенерации черной субстанции, так и при имплантации кобальта. Однако отмечали противоположно направленные изменения общих фосфолипидов легочного сурфактанта. В условиях нейродегенерации наблюдали понижение содержания фосфолипидов и холестерина в бронхоальвеолярных смывах ($p < 0,05$) в сочетании с активацией ферментов фосфолипазного гидролиза и наличием отрицательной взаимосвязи активности фосфолипазы с количеством общих фосфолипидов ($r_s = -0,83$; $p < 0,05$) и фосфатидилхолином ($r_s = -1,0$; $p < 0,01$). Формирование очага патологической активности в черной субстанции мозга сопровождалось повышением продукции альвеолярных фосфолипидов. Выявленные корреляционные взаимосвязи между общими фосфолипидами и макрофагами ($r_s = -0,56$; $p < 0,05$), фосфатидилхолином и фагоцитарным индексом ($r_s = 0,87$; $p < 0,05$) позволяют предположить снижение активности процессов катаболизма липидов сурфактанта. При дисфункции черной субстанции, как в условиях нейродегенерации, так и патологической активации наблюдалось увеличение кровенаполнения легких ($p < 0,01$). Вместе с тем, кобальтовая активация структуры сопровождалась гипергидратацией легких с увеличением в них общей и экстраваскулярной жидкости ($p < 0,05$). У животных с введением 6-гидроксидофамина количество общей жидкости не изменилось. Корреляционная взаимосвязь кровенаполнения и индекса стабильности альвеол, косвенно отражающая зависимость поверхностной активности сурфактанта от условий гемодинамики, в обеих экспериментальных группах уменьшилась относительно контроля ($r_s = 0,54$; $p < 0,01$). Однотипные изменения получены в эндопульмональной цитограмме: уменьшилось количество альвеолярных макрофагов ($p < 0,01$), снизилась их фагоцитарная активность ($p < 0,01$), увеличилось число лимфоцитов ($p < 0,01$). Исследования активности ПОЛ легочной ткани по концентрации малонового диальдегида в условиях нейродегенерации и кобальтовой активации черной субстанции показали усиление процессов свободнорадикаль-

ного окисления ($p < 0,05$) при разнонаправленном изменении активности каталазы ($p < 0,01$). Интенсификация процессов ПОЛ могла способствовать не только дестабилизации выстилающего комплекса альвеол, но и дисфункции легочного эндотелия. Оценка гемостазиологических показателей на модели нейродегенерации структуры выявила повышение коагуляционного потенциала венозной крови по протромбиновому времени — значение теста в опыте уменьшилось ($p < 0,05$). Гиперкоагуляция усилилась в системе малого круга кровообращения: снижались показатели тромбопластинового и протромбинового времени артериальной крови ($p < 0,01$), отражающие избыточную активацию факторов свертывания внутреннего и внешнего пути. Аналогичная тенденция прослеживалась в динамике показателей гемостаза при моделировании очага патологической активности в черной субстанции мозга: были определены явления гиперкоагуляции венозной крови по протромбиновому времени ($p < 0,01$) с сохранением высокого коагуляционного потенциала артериальной крови ($p < 0,0$). Анализ взаимосвязей выявил корреляции между активностью ПОЛ и гемостазиологическими параметрами.

Таким образом, индуцирование нейродегенерации черной субстанции и очага патологической активности в структуре вызвали однотипные изменения поверхностной активности легочного сурфактанта и фракционного состава липидов, но противоположные изменения количества альвеолярных фосфолипидов с различной степенью гидратации легких. При дисфункции черной субстанции мозга повышается интенсивность свободнорадикальных процессов в легочной ткани, наблюдается дисрегуляция коагуляционного потенциала крови в системе малого круга кровообращения, снижается эффективность механизмов неспецифической органной резистентности. Выявленные нарушения негазообменных функций легких в условиях дисфункции черной субстанции мозга свидетельствуют о формировании дисрегуляторной пневмопатии.

Список литературы

1. Гусев Е.И., Крыжановский Г.Н. Дисрегуляторная патология нервной системы. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. — 512 с.
2. Лукина С.А., Тимофеева М.Р. Метаболические функции легких при активации черной субстанции и в условиях ГАМКергической медиации амигдаларных и стволовых структур мозга // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2014. — Т. 100 (1). — С. 86—95.
3. Худоевков Р. М., Воронков Д. Н., Ямщикова Н. Г. Иммуногистохимические и морфологические изменения нейронов и нейроглии в нигростриатных структурах мозга при моделировании нейродегенерации черной субстанции // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 2012. — Т. 153 (6). — С. 876-880.
4. Grealish S., Mattsson B., Draxler P., Bjorklund A. Characterisation of behavioural and neurodegenerative changes induced by intranigral 6-hydroxydopamine lesions in a mouse model of Parkinson's disease // Eur. J. Neurosci. — Vol. 31 (12). — P. 2266-2278.

Иммунные механизмы алкогольной мотивации ив условиях направленной модуляции активности ренин-ангиотензиновой системы

Толыго С.М., Певцова Е.И., Лагутина Л.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт нормальной физиологии
им. П.К.Анохина» РАМН, Москва, Россия*

Общепризнанно, что длительное потребление алкоголя сопряжено с выраженной активацией ренин-ангиотен-

зиновой системы (РАС). Ранее нами была предложена гипотеза об участии РАС в механизмах развития, реализации и стабилизации алкогольной зависимости, в соответствии с которой аутоиммунные процессы (специфичные по отношению к компонентам РАС) являются не только следствием токсического влияния этанола, а одним из собственно механизмов развития и поддержания алкогольной зависимости.

Гиперактивация РАС сопровождается увеличением содержания в крови и тканях её основного эффекторного пептида — ангиотензина II (А-II). Такие физиологические эффекты А-II, как инициация жажды, регуляция водно-солевого баланса, гипертензия, модуляция активности симпатoadrenalовой системы и др. осуществляются за счет его взаимодействия с АТ1-рецепторами. АТ2-рецептор А-II проявляет свойства антагониста АТ1-рецептора, оказывает антипролиферативное и проапоптотическое действие, участвует в процессах развития, дифференцировки и восстановления тканей.

В экспериментах на животных со сформированной алкогольной зависимостью изучена динамика иммунологических и биохимических показателей в условиях направленной длительной модуляции активности РАС. Модуляцию активности РАС осуществляли путем активации или блокады специфических рецепторов А-II, при пролонгированном введении соответственно А-II или антагонистов его рецепторов. С этой целью использовали осмотические мининасосы («Alzet», США), обеспечивающие непрерывное поступление вещества в организм в течение 7 суток.

Выполнено 3 серии экспериментов на 75 крысах-самцах популяции «Wistar» (по 13 опытных и 12 контрольных животных в каждой серии). Все крысы в ходе экспериментов были подвергнуты принудительной хронической алкоголизации путем замены воды на 15% раствор этилового спирта в течение 3 месяцев. Затем животные были помещены в условия свободного выбора между водой и 15% раствором этанола с целью определения предпочтения в приеме одной из жидкостей. После 6—8 недель содержания в условиях свободного выбора между водой и 15% раствором этанола всем животным подкожно были вживлены осмотические мининасосы. В условиях свободного выбора у всех крыс оценивали суточное количество произвольно потребляемых воды и алкоголя. Осмотические мининасосы под легким эфирным наркозом имплантировали крысам под кожу в надлопаточной области. В 1-й серии экспериментов животным осуществляли введение А-II [фирма American Peptides, США] (скорость выведения из мининасоса 1 мкл/ч, суммарная доза 300 мкг на мининасос). Во 2-й серии опытов крысам вводили непептидный антагонист АТ1-рецепторов — лозартан [фирмы Sigma, США] (скорость выведения из мининасоса 1 мкл/ч, суммарная доза 1 мг на мининасос). Во 3-й серии крысам вводили непептидный антагонист АТ2-рецепторов — PD 123, 319 [фирма Sigma, США] (скорость выведения из мининасоса 1 мкл/ч, суммарная доза 700 мкг на мининасос). Контрольным животным имплантировали осмотические мининасосы, заполненные физиологическим раствором. У всех животных через 1 и 3 месяца после начала алкоголизации, а также на 10—12 день после вживления осмотических мининасосов отбирали пробы крови для определения титров антител к А-II, иммуноклеточного статуса и биохимических показателей крови.

Было обнаружено, что у крыс с искусственно сформированной алкогольной мотивацией активация РАС на фоне длительного введения А-II (в течение 7 дней) в условиях свободного выбора между водой и этанолом достоверно увеличивала потребление этанола и уменьшала потребление воды. Снижение активности РАС путем блокады АТ1 и АТ2-рецепторов приводило к разнонаправленным изменениям в потреблении воды и этанола. Пролонгированное введение антагониста АТ1-рецепторов — лозартана вызывало умеренное уменьшение суммарного объема потребляемой жидкости как непосредственно после вживления осмотического мининасоса, так и в течение последующих 7 дней после прекращения его действия. При этом отмечали последовательное уменьшение потребления воды, которое после окончания выхода лозартана из мининасоса сочеталось с достоверным увеличением приема алкоголя. При длительном введении антагониста АТ2-рецепторов PD 123,319 наблюдали последовательное снижение количества потребляемого этанола и в ходе выхода вещества из осмотического мининасоса и после прекращения его действия.

При длительной направленной модуляции активности РАС были выявлены фазные изменения показателей гуморального и клеточного иммунитета. Ранее описаны изменения иммуноклеточного статуса в результате хронической алкоголизации животных в виде дефицита ключевых клеток адаптивного иммунитета при сохранности или увеличении числа клеток врожденного иммунитета. Показано также развитие дисбаланса между высокой активностью NO-синтазы во всех клетках крови и неизменном или даже сниженном уровне продукции оксида азота в плазме крови, который рассматривается как следствие переключения активности NO-синтазы с синтеза оксида азота на продукцию супероксида в ходе окислительного стресса. В условиях свободного выбора между раствором этанола и водой, а также при длительном введении антагониста АТ1-рецепторов лозартана четко прослеживается тенденция к существенной нормализации иммуноклеточного статуса и дисбаланса активности NO-синтазы в клетках крови и неизменном или сниженном уровне продукции оксида азота в плазме крови. После пролонгированного введения А-II и блокатора АТ2-рецепторов PD 123,319 эти сдвиги усилились и стали более выраженными, чем при принудительной алкоголизации. При исследовании корреляционных взаимосвязей между содержанием продукта перекисного окисления липидов — малонового диальдегида, которое отражает интенсивность прооксидантных процессов, и активностью каталазы (антиоксидантным ферментом) в сыворотке крови крыс показано, что при длительной алкоголизации выявляется достоверная положительная корреляция. В условиях свободного выбора между водой и этанолом положительная корреляционная взаимосвязь между показателями окислительного стресса исчезала. После длительного введения А-II и PD 123,319 у опытных крыс, в отличие от контроля и введения лозартана, данная корреляция вновь обнаруживалась. После длительного введения PD 123,319, было зарегистрировано также значительное возрастание активности ГБДГ, превышающее нормальные значения почти в 2 раза, что указывает на ишемические повреждения миокарда и эндотелия сосудов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что перестройка регуляции водно-солевого баланса в организме,

нарушения иммунного статуса и изменения в системе оксида азота, индуцируемые хронической алкоголизацией, а также их стабилизация на фоне сформировавшейся алкогольной зависимости, связаны, по-видимому, преимущественно с активацией АТ1-рецепторов. При этом снижение активности АТ2-рецепторов способствует усилению токсического действия алкоголя на органы и ткани, и как следствие, прогрессированию соматических осложнений хронического алкоголизма.

Работа поддержана РФФИ (проект №11-06-00847).

Эмоциональный стресс на фоне иммунизации конъюгатами нейромедиаторов с БСА

*Умрюхин А.Е.^{1,2}, Чекмарева Н.Ю.^{1,2},
Ветрилз Л.А.³, Захарова И.А.³*

¹ — Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

² — НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, Россия

³ — НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия

Перспективной задачей современной биологии и медицины является расшифровка мозговых механизмов эмоционального стресса и устойчивости физиологических функций к его повреждающему действию. Ранее в работах В.А. Евсеева, Т.В. Давыдовой с соавторами [1, 2] было показано, что мозговые нейрохимические механизмы эмоционального стресса изменяются при иммунизации животных конъюгатами нейромедиаторов с белками носителями. Такая иммунизация приводила к возрастанию уровня антител к нейромедиаторам в крови животных, что сопровождалось изменениями их поведения, уровня их болевой чувствительности, а также других функций организма, отражающих его устойчивость к эмоциональному стрессу [3, 4].

Целью настоящего исследования было изучение центральных и периферических механизмов эмоционального стресса и устойчивости физиологических функций к его повреждающему действию на фоне иммунизации животных конъюгатами нейромедиаторов с бычьим сывороточным альбумином (БСА).

Прижизненное в условиях свободного поведения определение содержания нейромедиаторов в дорсальном гиппокампе у крыс осуществляли с помощью методик микродиализа с последующей высококачественной жидкостной хроматографией с электрохимической детекцией. Нейрохимический профиль дорсального гиппокампа оценивали у животных в динамике исходного состояния покоя, часовой иммобилизационной стрессорной нагрузки и последующего часового постстрессорного периода. Содержание кортикостерона в крови определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов для измерения уровня кортикостерона крыс AC-14F1 (Immunodiagnostic Systems Ltd, UK). Уровень язвообразования слизистой оболочки желудка регистрировали у крыс через час после окончания часовой иммобилизационной стрессорной нагрузки. Рассчитывали индекс Паулса, учитывающий степень язвенного поражения и количество животных с эрозивно-язвенными поражениями слизистой оболочки желудка. Также оценивали со-

стояние органов маркера стресса по изменению относительной массы надпочечников, тимуса и селезенки.

Иммунизацию крыс конъюгатами дофамина и глутамата с БСА и определение уровня антител в крови осуществляли в соответствии с методиками, разработанными под руководством В.А. Евсеева [1]. Животные контрольной группы получали введение БСА с поливалентным адьювантом Фрейнда в одинаковые сроки и в эквивалентных количествах с иммунизированными животными.

На фоне иммунизации конъюгатами дофамина и глутамата с БСА обнаружена различная нейрохимическая интеграция содержания дофамина, норадреналина, глутамата и ГАМК в дорсальном гиппокампе у поведенчески активных и пассивных крыс в динамике стрессорной нагрузки и постстрессорного периода.

При повышении уровня антител к дофамину на фоне иммунизации конъюгатом дофамина с БСА у поведенчески активных и пассивных крыс в дорсальном гиппокампе возрастало содержание дофамина и разнонаправлено изменялось содержание норадреналина. На фоне повышения уровня антител к глутамату при иммунизации конъюгатом глутамата с БСА у поведенчески активных и пассивных крыс в дорсальном гиппокампе снижалось содержание норадреналина, разнонаправлено изменялось содержание дофамина и глутамата. На фоне повышенного уровня антител к глутамату у поведенчески активных крыс в постстрессорном периоде в дорсальном гиппокампе выявлено выраженное увеличение содержания ГАМК.

У поведенчески активных и пассивных крыс на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с БСА было обнаружено снижение относительной массы надпочечников после стрессорной нагрузки. Снижение массы надпочечников у активных по поведению в тесте «Открытое поле» крыс на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с БСА сопровождалось снижением уровня кортикостерона у них в крови. Известные данные литературы свидетельствуют о том, что гиппокамп оказывает угнетающее действие на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового механизма образования глюкокортикоидных гормонов. Глутаматергические проекции гиппокампа регулируют активность ГАМКергических нейронов переднего прилежащего ядра терминальной полоски — структуры, которая непосредственно осуществляет регуляцию активности паравентрикулярных ядер гипоталамуса. Можно полагать, что обнаруженное у поведенчески активных крыс после стрессорной нагрузки на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с БСА снижение уровня кортикостерона в крови опосредовано усиленной в результате иммунизации ГАМКергической нейротрансмиссией в дорсальном гиппокампе.

У поведенчески активных крыс на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с БСА было обнаружено возрастание выраженности язвообразования в слизистой оболочке желудка. В настоящее время получено большое количество данных, которые указывают на защитное действие глюкокортикоидных гормонов, образующихся в условиях конфликтных стрессогенных ситуаций, на целостность слизистой оболочки желудка. Это позволяет предположить, что сниженный на фоне иммунизации конъюгатом глутамата с БСА уровень кортикостерона сопровождается снижением его гастропротективных эффектов в условиях острого стрессорного воздействия, что вызывает возраст-

тание язвообразования у иммунизированных конъюгатом глутамата с БСА поведенчески активных крыс.

Таким образом, иммунизация конъюгатами нейромедиаторов с БСА изменяет нейрохимическую интеграцию эмоционального стресса. Изменение церебральных нейрохимических механизмов сопровождается изменением периферических гормональных, органных и поведенческих стрессорных реакций, определяющих устойчивость физиологических функций организма к повреждениям в условиях эмоционального стресса. Выраженное стимулирующее действие иммунизации конъюгатом глутамата с БСА на ГАМКергические механизмы дорсального гиппокампа сопровождается снижением уровня кортикостерона в крови поведенчески активных животных после стрессорной нагрузки и усилением у них язвообразования в слизистой оболочке желудка.

Список литературы

1. Евсеев В.А. Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммунопатологии. — М.: Изд-во РАМН, 2007. — 148 с.
2. Давыдова Т.В. и др. Сравнительный анализ действия антител к дофамину и серотонину на функциональную активность Т-, В-лимфоцитов и перитонеальных макрофагов // Пат. физиол. и Экспер. тер. — 1998. — №2. — С. 10—13.
3. Евсеев В.А. и др. Антитела к дофамину как нейромодуляторы поведенческих реакций мышей разных генотипов // Журн. выпш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. — 2002. — Т. 52, №3. — С. 320—325.
4. Трекова Н.А. и др. Антитела к дофамину: действие на поведение в «открытом поле», болевую чувствительность, содержание моноаминов в ЦНС и функциональную активность иммуноцитов мышей линии C57Bl/6 // Журн. выпш. деят. — 1999. — Т. 49, №5. — С. 799—807.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №13-04-01908.

Клеточные факторы врожденного иммунитета легких при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите в условиях капсаициновой блокады блуждающего нерва

Уракова М.А., Брындина И.Г.

ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия», Ижевск, Россия

К настоящему времени рассеянный склероз является одной из самых значимых медицинских и социальных проблем в связи с прогрессивным течением заболевания у лиц трудоспособного возраста. Многообразие клинических проявлений рассеянного склероза можно объяснить различной локализацией очагов демиелинизации при данной патологии. Известна также высокая частота летальных исходов при рассеянном склерозе от развившейся пневмонии. Согласно ранее проведенным исследованиям, выявлено изменение неспецифической резистентности легких при воздействии на некоторые структуры мозга, а также при патологиях головного мозга неиммунного генеза [1, 4, 5]. Установлено также изменение клеточных факторов врожденного иммунитета легких при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (ЭАЭ) — одной из экспериментальных моделей рассеянного склероза [2, 3]. Несмотря на многочисленные фундаментальные исследования, патогенез этой аутоиммунной патологии и её осложнений, в том числе пневмонии, до конца остается не выясненным.

Целью исследования стало изучение функциональной активности клеточных факторов врожденного иммунитета легких при моделировании ЭАЭ в условиях капсаициновой блокады блуждающего нерва

Опыты выполнены на 50 крысах-самцах массой 180—250 г. ЭАЭ моделировали на 15 животных (1-я группа) путем подкожной инокуляции энцефалитогенной смеси с полным адьювантом Фрейнда. Вторую группу составляли крысы ($n = 10$), у которых ЭАЭ сочетали с двусторонней аппликацией 50 мкМ капсаицина («Sigma») на изолированную шейную часть блуждающего нерва. В качестве контроля использовалось 25 интактных животных.

Спустя 14 суток у всех крыс получали бронхо — альвеолярные смывы (БАС). Из клеточной взвеси, полученной после центрифугирования БАС, готовили мазки, окрашивали их по Романовскому — Гимзе и подсчитывали эндотелиальную активность альвеолярных макрофагов подсчитывали фагоцитарный индекс (ФИ) — процент фагоцитирующих клеток, и фагоцитарное число (ФЧ) — среднее число объектов фагоцитоза (дрожжей), поглощенное одной клеткой спустя 30 и 60 минут инкубации. При сопоставлении фагоцитарного числа на 30 и 120 минутах инкубации подсчитывали индекс завершенности фагоцитоза — ФЧ 30/ФЧ 120.

Было выявлено, что ЭАЭ сопровождался изменением клеточного состава бронхо-альвеолярных смывов, что проявлялось увеличением количества альвеолярных макрофагов на 37%, а также понижением содержания лимфоцитов на 52% и нейтрофилов на 90% по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Воспроизведение ЭАЭ в условиях капсаициновой блокады блуждающего нерва сопровождалось снижением количества альвеолярных макрофагов по сравнению с результатами у животных 1-й группы на 55% и интактных крыс на 37% ($p < 0,05$). Содержание лимфоцитов, сниженное при аутоиммунной патологии головного мозга, увеличивалось в условиях дополнительного воздействия капсаицина на 160% и 36% в отличие от данных при ЭАЭ и контрольных значений соответственно ($p < 0,05$).

Изучение поглотительной способности альвеолярных макрофагов при ЭАЭ выявило увеличение фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа спустя 30 и 120 минут инкубации на фоне незавершенности фагоцитоза ($p < 0,05$). При сочетании ЭАЭ и капсаицинового воздействия происходило снижение фагоцитарного индекса в 7 раз и в 1,8 раза по сравнению с крысами без капсаициновой блокады спустя 30 и 120 минут инкубации соответственно ($p < 0,05$). Особое внимание заслуживает резкое уменьшение фагоцитарного числа спустя 30 минут в 21 раз и спустя 120 минут в 7 раз по сравнению с 1-й группой, что вызывает значительное снижение индекса завершенности фагоцитоза ($p < 0,05$).

Таким образом, двусторонняя капсаициновая блокада блуждающего нерва при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите нивелирует изменения клеточного состава бронхо-альвеолярных смывов и поглотительной активности альвеолярных макрофагов, выявленные при аутоиммунной патологии без дополнительных воздействий. Полученные результаты свидетельствуют об участии капсаицин-зависимых механизмов в реализации эффекторных вагусных влияний при экспериментальном

аутоиммунном энцефаломиелите на систему неспецифической резистентности легких.

Список литературы

1. Уракова М.А., Брындина И.Г. Врожденная иммунологическая резистентность легких при алкогольном, травматическом и аутоиммунном повреждении головного мозга в эксперименте // Нейронаука для медицины и психологии: 9-й Международный Междисциплинарный Конгресс. Труды Конгресса. — М.: МАКС ПРЕСС, 2013. — С. 336.
2. Уракова М.А., Дюшина Н.В. Неспецифическая резистентность легких при моделировании экспериментального аллергического энцефаломиелита у крыс // Совр. асп. медицины и биол.: Матер. V межвуз. науч.-практ. конф. молод. ученых и студ. — Ижевск, 2008. — Ч.1. — С. 29—31.
3. Уракова М.А. Неспецифическая резистентность, сурфактант и кровенаполнение легких при моделировании экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у крыс // Актуальные вопросы современной физиологии и медицины: Мат. межрег. научно-практ. конф., 2010. — Ижевск, 2010. — С. 78—80.
4. Уракова М.А. Сурфактант и неспецифическая резистентность легких при воздействии на обонятельные структуры мозга // XII Нац. конгресс по болезням органов дыхания, СПб. — Приложение. Пульмонология: Сб. резюме. — 2003. — С. 256.
5. Уракова М.А. Сурфактантная система, неспецифическая резистентность и кровенаполнение легких при моделировании алкоголизма и ЧМТ у крыс // Патогенез. — 2010. — Т. 8, №1. — С. 63.

Поведенческие реакции и иммунная система мозга при экспериментальной ЧМТ

Филатенкова Т.А., Дмитриенко Е.В., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Рыбакина Е.Г.

*ФГБУ «НИИ ЭМ» СЗО РАМН,
Санкт-Петербург, ул. Ак. Павлова 12, 197376*

Целью настоящего исследования было изучение изменений поведенческих реакций и активности иммунной системы мозга, общего количества поврежденной ДНК, уровня активации астроцитов и клеток микроглии при и после экспериментальной черепно-мозговой травмы, а также попытки их коррекции с помощью препаратов нуклеотидной природы.

Материалы и методы. Работа выполнена на взрослых крысах-самцах породы Wistar. Для выявления изменений поведенческих реакций животных использовались такие тесты, как «Открытое поле», «Водный лабиринт Морриса»; результаты регистрировались автоматически с использованием системы видеотрекинга «VideoMot 2» (TSE Systems, Германия).

В качестве модели тяжелой механической травмы головного мозга использовали модель «падающего груза», в которой травма наносится в результате свободного падения груза. (Albert-Weissenberger, 2010; Blaha, 2010; Potis, 2009).

С целью определения изменений, происходящих с клетками астроцитов и микроглии после черепно-мозговой травмы, проводили иммуногистохимическое окрашивание с использованием антител к белкам Iba-1, GFAP, MAP2 и 8-охо-guanine.

В качестве препарата нуклеотидной природы применяли натриевую соль ДНК, молекулярной массой 270—500 кДа, являющуюся основой лекарственного препарата Деринат (ЗАО «ФП Техномедсервис», Москва).

Результаты. В проведенном исследовании показано, что на 7-е сутки после нанесения травмы у животных существенным образом снижается пространственная па-

мять, определяемая по таким показателям как длительность времени, проведенного в секторе интереса, и латентность — время достижения сектора интереса в тесте «Водный лабиринт Морриса». При этом время, проведенное в секторе интереса, достоверно снижено относительно такого же показателя у контрольных животных, длительность периода необходимого для достижения этого сектора, увеличена. Курсовое введение препарата нуклеотидной природы приводило к восстановлению этих показателей до уровня, характерного для контрольных животных.

Таким образом, после черепно-мозговой травмы у животных снижаются показатели, свидетельствующие об исследовательской активности, что проявляется при тестировании изменений поведения, и повышается уровень депрессии и тревожности. Курсовое введение препарата нуклеотидной природы позволяет корректировать эти нарушения и восстанавливать измененные процессы до уровня, характерного для контрольных животных. Следует подчеркнуть, что у животных, не получавших лечения Деринатом, поведенческие реакции на 14-е сутки указывали на ухудшение их состояния, по сравнению с таковым на 7-е сутки, что может свидетельствовать о начале развития к 14-м суткам вторичных процессов, являющихся следствием черепно-мозговой травмы.

Глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP), экспрессирующийся в головном мозге астроцитами, является одним из основных иммуноцитохимических маркеров этих клеток. Было отмечено лишь незначительное увеличение экспрессии GFAP клетками астроглии на 7-е и 14-е сутки после ЧМТ, причём 4-кратное внутрибрюшинное введение препарата нуклеотидной природы не вызывало изменения этого показателя.

Кальций-связывающий белок (Iba-1), является маркером активации микроглии и ряда других фагоцитирующих клеток и высоко экспрессируется активированной микроглией.

Черепно-мозговая травма вызывает активацию клеток микроглии в коре головного мозга крыс на 7-е сутки после черепно-мозговой травмы, в то время как на 14-е сутки активность микроглиальных клеток снижена по сравнению с этим показателем у контрольных животных. Четырехдневное курсовое введение препарата нуклеотидной природы крысам внутрибрюшинно после экспериментальной ЧМТ приводит к повышению активации клеток микроглии по сравнению с уровнем их активации в коре головного мозга после ЧМТ у животных, не получавших препарат нуклеотидной природы как на 7-й, так и на 14-й день после ЧМТ.

Под действием черепно-мозговой травмы также происходит окислительное повреждение ДНК клеток ЦНС. 8-оксо-гуанин — это продукт окислительного повреждения гуанина, появляющийся в ДНК живых клеток под действием активных форм кислорода. Маркером ДНК клеток является DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндола), который способен проникать через мембрану как живых, так и фиксированных клеток.

На срезах головного мозга контрольных животных поврежденная ДНК не определяется. Однако на 7-е и 14-е сутки после перенесенной черепно-мозговой травмы процент клеток, содержащих поврежденную ДНК, в коре головного мозга крыс значителен. Препарат нуклеотидной природы, вводимый внутрибрюшинно животным в те-

ние 4-х дней после ЧМТ, оказывал положительное действие на ДНК клеток коры головного мозга, на 7-е и 14-е сутки после ЧМТ уменьшая их процентное содержание по сравнению с их количеством в мозгах крыс, не получавших лечения.

Заключение. В настоящем исследовании продемонстрированы изменения в поведенческих реакциях животных, степени повреждения клеток головного мозга и возможность активации клеток иммунной системы мозга крыс после перенесённой ЧМТ. Показано его корригирующее и во многом нормализующее действие препарата нуклеотидной природы на исследованные процессы. Изучение клеточно-молекулярных нарушений функций иммунной системы мозга и поведенческих реакций позволяют понять механизмы приводящие к развитию изменений функций мозга не только в острый, но и отдаленный период после травмы. Исследование эффектов действия препаратов нуклеотидной природы (таких, как Деринат) свидетельствует о целесообразности применения подобных средств при лечении ЧМТ и высокой перспективности разработки такого рода препаратов в будущем.

Список литературы

1. Christiane Albert-Weissenberger and Anna-Leena Siren, Experimental traumatic brain injury // *Experimental & Translational Stroke Medicine*. — 2010. — 2. — 16.
2. Martin Blaha, Juraj Schwab, Olga Vajnerova, Michal Bednar, Ludek Vajner, Tichy Michal, Intracranial Pressure and Experimental Model of Diffuse Brain Injury in Rats // *J. Korean Neurosurg. Soc.* — 2010. — January. — 47(1). — P. 7–10.
3. Matthew B. Potts, Hita Adwanikar, Linda J. Noble-Hacusslein, Models of Traumatic Cerebellar Injury // *Cerebellum*. Sep. 2009. — 8(3). — P. 211–221.

Серотонино-нейроэндокринно-иммунные взаимодействия при моделировании хронической усталости

*Фомичева Е.Е., Шанин С.Н.,
Филатенкова Т.А., Рыбакина Е.Г.*

*Федеральное Государственное бюджетное учреждение
Научно-исследовательский институт экспериментальной
медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия*

При развитии синдрома хронической усталости (СХУ) происходят значительные нарушения функций нейроэндокринной и иммунной систем, в механизмах развития которых участвуют нейромедиаторные системы, в том числе и серотонинэргическая [1, 3], которая регулирует синтез и выделение кортикотропин-релизинг фактора (КРФ) в гипоталамических структурах мозга, ряда других нейрогормонов и гормонов передней доли гипофиза [3]. В настоящее время изучение механизмов развития СХУ проводится преимущественно в клинике [3]. Для моделирования этого заболевания использована предложенная японскими учеными модель иммунологически индуцированной хронической усталости, вызываемой внутрибрюшинным введением крысам синтетической двуцепочечной РНК (полирибоинозитиловой:полирибозитидиловой кислоты, Poly I:C) [4]. Под влиянием этого препарата наблюдается снижение спонтанных побегов крыс во вращающемся колесе до 60% на 7-й день после инъекции препарата Poly I:C, что является маркером развития усталости в эксперименте [4].

Целью настоящей работы было исследование участия серотонинэргической системы в механизмах нарушения

функций ГГКС и иммунной системы при моделировании хронической усталости, а также поиск возможности коррекции этих нарушений при использовании агонистов и антагонистов рецепторов к серотонину, изменяющих уровень медиатора в различных органах, в том числе в мозге [1].

Работа проведена на крысах-самцах Wistar массой 200–230 г из питомника «Рапполово». Хроническую усталость в эксперименте индуцировали внутрибрюшинным введением Poly I:C в дозе 3 мг/кг в 0,5 мл физиологического раствора. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме. В работе использовали агониста серотониновых рецепторов 1 типа (5-HTR1) — 8-ОН-DPAT в низкой 0,3 мг/кг и высокой 1 и 2 мг/кг дозах и антагониста 5-HTR1 — NAN-190 в дозе 1 мг/кг массы, которые вводили в течение 3-х дней на 5,6,7 дни после аппликации Poly I:C. Для выявления нарушений функций ГГКС при хронической усталости в эксперименте были проведены стандартные функциональные пробы [3] с внутрибрюшинным введением животным гидрокортизона на фоне действия агониста или антагониста 5-HTR1 и Poly I:C. В качестве показателя изменения активности функций ГГКС использовали изменение концентрации кортикостерона в крови под влиянием вводимых препаратов: гидрокортизона (Рихтер, Венгрия) в дозе 50 мг/кг внутрибрюшинно на 7, 10 и 14-е сутки после аппликации Poly I:C и инъекций агониста и антагониста 5-HTR1. Содержания кортикостерона определяли иммуноферментным методом с помощью стандартных наборов реактивов ELISA фирмы DRG. Оценку цитотоксической активности естественных клеток-киллеров (ЕК) селезенки проводили на 7, 10 и 14-е сутки после введения животным препаратов Poly I:C и агониста и антагониста 5-HTR1. В качестве мишеней для ЕК клеток использовали клетки эритромиелолейкоза человека К-562 (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург), которые метили 3Н-уридином (В/О «Изотоп», Россия). Проллиферативную активность спленоцитов определяли по изменению интенсивности реакции бласттрансформации спленоцитов (РБТС), которую оценивали по уровню включения в ДНК делящихся клеток 3Н-тимидина (ГИПХ, Санкт-Петербург), внесенного в суспензию спленоцитов в дозе 5 мККи/мл.

Показано, что введение агониста 5-HTR1 — 8-ОН DPAT активизирует функции ГГКС как у контрольных животных, так и у получавших Poly I:C, а антагонист 5-HTR1 в выбранной дозе практически не изменяет ее функциональной активности. Введение гидрокортизона на фоне однократной инъекции Poly I:C вызывает нарушение функций ГГКС, что сопровождается длительным и значительным снижением концентрации кортикостерона в крови, по сравнению с уровнем гормона у контрольных животных, получавших только гидрокортизон. Ответная глюкокортикоидная реакция на введение агониста 5-HTR1 зависит от дозы агониста. Если гидрокортизон вводится животным, предварительно получавшим Poly I:C и агониста 5-HTR1 в низкой дозе 0,3 мг/кг, наблюдается отмена супрессии секреции кортикостерона и уровень гормона в крови значительно повышается. При введении агониста в высокой дозе и антагониста на фоне Poly I:C — ответная гормональная реакция ревертирована или не изменяется. 3-кратное внутрибрюшинное введение селективного агониста 5-HTR1 8-ОН DPAT в дозе 0,3

мг/кг предотвращает снижение пролиферативной активности спленоцитов, стимулированных КонА и ИЛ-1 β , на 7-й день после введения животным препарата Poly I:C. Такое же нормализующее действие оказывает введение 8-ОН DPAT и на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки, падение которой было также индуцировано инъекцией Poly I:C. Курсовое введение агониста 5-HTR1 в высокой дозе и антагониста Nan-190 крысам, предварительно получавшим препарат Poly I:C, не приводит к изменению функциональной (пролиферативной и цитотоксической) активности спленоцитов, сниженной после воздействия Poly I:C. Полученные данные позволяют предположить, что модификация активности серотонинергической системы, вызванная действием агониста и антагониста в определенной дозе, оказывает существенное влияние на функциональную активность иммунокомпетентных клеток, измененную в результате действия Poly I:C. Возможно, это связано с действием агониста 5-HTR1 в низкой и высокой дозах соответственно на рецепторы пресинаптической или постсинаптической мембран клеток-мишеней, обладающих разной чувствительностью к действию медиатора [2]. Считается, что при формировании некоторых форм патологии как в клинике, так и в эксперименте (СХУ, депрессии) развивается десенситизация постсинаптических рецепторов и они становятся нечувствительными к последующим активирующим воздействиям агониста 5-HTR1 [1, 3]. Комплекс проведенных исследований свидетельствует о серотонино-нейроэндокринно-иммунном взаимодействии в механизмах развития СХУ при его моделировании. Снижение чувствительности рецепторов к серотонину на клетках-мишенях при СХУ послужило основанием для попытки коррекции наблюдавшихся при экспериментальном СХУ нарушений: введение агониста 5-HTR1 — 8-ОН-DPAT, именно в низкой дозе, приводит к восстановлению нарушенных функций ГГАСК и функциональной активности иммунокомпетентных клеток.

Список литературы

- Идова Г.В., Альперина Е.Л. Роль серотонинергических механизмов в нейроиммунотуляции при депрессивных состояниях // *Нейроиммунология*. — 2012. — Т. 10 (1–2). — С. 4–10.
- Barnes N.M., Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function // *Neuropharmacology*. — 1999. — Vol. 38. — P. 1083–1152.
- Cleare A.J. The HPA axis and the genesis of chronic fatigue syndrome // *Trends Endocrinol Metabol*. — 2004. — Vol. 15. — P. 55–59.
- Katafuchi T., Kondo T., Take S., Yoshimura M. Enhanced expression of brain interferon- α and serotonin transporter in immunologically fatigue in rats // *Eur. J. Neuroscience*. — 2005. — Vol. 22. — P. 2817–2826.

Дифференцированный вклад дофаминовых D1- и D2-рецепторов в мю-опиоидную иммуностимуляцию у мышей с различным психоэмоциональным состоянием

Чейдо М.А.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» СО РАНН,
Новосибирск, Россия

Нейромодуляторные/нейромедиаторные мю-опиоидергическая и ДАергическая (ДА) системы заслуживают особое внимание в связи с участием в развитии различных форм нейропатологий, сопровождающихся глубоким

нарушением иммунного реагирования. Вместе с тем собственные нейрофизиологические и нейрофармакологические исследования, проведенные на мышах и крысах без социального стресса, демонстрируют участие обеих систем мозга в иммуностимуляции [4]. Особую важность приобретают результаты, показавшие наличие взаимодействия в этом процессе между мю-опиоидными рецепторами (мю-ОР) и ДА D2-рецепторами. Подобная взаимосвязь установлена не только в иммунных, но и различных поведенческих реакциях, что подтверждается тесной структурно-функциональной организацией мю-опиоид/ДА связей [3]. Кроме того, по данным последних лет, мю-опиоидные [5] и ДА [1] механизмы включаются в регуляцию и развитие различных психоэмоциональных состояний человека и животных, играющих важную роль в проявлении иммунной функции.

Цель работы — оценка вклада основных типов ДА рецепторов (D1 и D2) в мю-опиоид-индуцированную иммуностимуляцию в условиях моделирования агрессивного и депрессивного стереотипов поведения у мышей линии C57BL/6J.

Методы. Работа выполнена на половозрелых мышах-самцах с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского сообщества (86/609/ЕС) и одобренных Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАНН. Формирование у мышей агрессивного и депрессивного поведения проводили в течение 10 дней, используя экспериментальную модель сенсорного контакта [2]. Для специфической активации мю-ОР использовали структурный аналог энкефалина DAGO (Sigma, Германия) (100 мкг/кг). Избирательную блокаду ДА рецепторов D1-типа осуществляли R-(+)-SCH-23390 (Sigma, Германия), а D2-типа — галоперидолом (ГП) (Гедон Рихтер А.О., Венгрия) в дозе 1 мг/кг. Препараты вводили в/б за 30 мин. до иммунизации мышей T-зависимым антигеном — эритроцитами барана (ЭБ) (5×10^8 клеток). Контрольные животные (без опыта побед и поражений) получали соответствующий объем растворителя (физиологический раствор) по той же схеме. Иммунный ответ оценивали на пике его развития (4 день после иммунизации) по числу IgM-антителообразующих клеток (IgM-АОК) в селезенке мышей. Достоверность различий между сравниваемыми группами определяли с помощью ANOVA-теста и t-теста Стьюдента при $p < 0,05$. При анализе данных использовали пакет программ «Statistica for Windows», ver. 10.0.

Результаты. Избирательная активация мю-ОР нейропептидом DAGO значительно усиливает у мышей интенсивность иммунной реакции ($F(1,12) = 79,99$; $p < 0,001$) по сравнению с контролем. На фоне селективной блокады D1-рецепторов SCH-23390 эффект DAGO не только сохраняется, но и усиливается по сравнению с таковым при использовании самого мю-агониста ($F(1,17) = 6,17$, $p < 0,02$). Напротив, влияние DAGO полностью предотвращается блокатором D2-рецепторов ГП: число IgM-АОК соответствует контрольному уровню ($F(1,11) = 1,62$; $p > 0,05$). Результаты экспериментов показали, что величина иммунной реакции у агрессивных особей выше, чем у депрессивных независимо от продолжительности социальных конфликтов (10 или 20 дней). Выявленные различия обусловлены нарушением сбалансированного взаимодействия в иммуномодуляции между нейромедиаторными ДАергической (иммуностимуляция) и серотонинергической (иммуносупрессия) системами с доминированием од-

ной из них [1]. Активация мю-ОР DAGO у мышей с 10 дневным опытом побед вызывает существенное повышение IgM-иммунного ответа ($F(1,13) = 28,22, p < 0,001$) по отношению к группе агрессивных мышей, не получавших мю-агонист. При сопоставлении с последней влияние DAGO сохраняется как на фоне введения SCH-23390 ($F(1,9) = 23,11; p < 0,001$), так и ГП ($F(1,10) = 14,88; p < 0,01$). По отношению к животным, обработанным только DAGO, уровень иммунного ответа был в 2 раза ниже, чем в группах агрессивных мышей, совместно получавших SCH-23390+DAGO ($F(1,14) = 14,63; p < 0,002$) или ГП+DAGO ($F(1,15) = 15,40; p < 0,001$). У мышей, подвергавшихся стрессу в течение 10 дней конфронтаций (начальная стадия депрессии), DAGO также значительно усиливает иммунитет ($F(1,13) = 124,65, p < 0,001$) по сравнению с животными без опиоида. Как показано нами ранее, подобное влияние DAGO у мышей этой же линии проявляется и в случае более длительных (20 дней) конфронтаций (стадия выраженной депрессии). Достоверное увеличение количества IgM-АОК в соответствии с контролем обнаружено и при совместном введении DAGO с Д1- ($F(1,9) = 384,40; p < 0,001$) и Д2- ($F(1,10) = 19,75, p < 0,001$) антагонистами. Вместе с тем при сопоставлении с депрессивными животными, получавшими только мю-агонист, величина иммунной реакции в группах мышей SCH-23390+DAGO ($F(1,14) = 56,35, p < 0,001$) или ГП+DAGO ($F(1,15) = 60,71, p < 0,001$) снизилась более чем в 2 раза.

Заключение. У мышей линии C57BL/6J без агонистического взаимодействия DAGO-индуцированная иммуностимуляция является ДА зависимой и обусловлена включением только Д2-рецепторов. В отличие от этого у агрессивных и депрессивных мышей, несмотря на различную исходную нейрхимическую картину мозга, и, как следствие, неодинаковый уровень иммунного ответа, активации мю-ОР DAGO вызывает повышение иммунной реакции, в реализации которого в равной степени принимают участие как Д2-, так и Д1-рецепторы.

Список литературы

1. Девойно Л.В., Идова Г.В., Альперина Е.Л. Психонейроиммуномодуляция. Поведение и иммунитет. — Новосибирск: Наука, 2009. — 168 с.
2. Кудрявцева Н.Н., Бакштановская И.В. // Журн. высш. нервн. деят-ти. — 1991. — Т. 41, №3. — С. 459—466.
3. Ambrose L.M., Unterwald E.M., Van Bockstaele E.J. // The anatomical record Part A: Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology. — 2004. — Vol. 279A (1). — P. 583—591.
4. Devoino L., Cheido M., Alperina E., Idova G. // Intern. J. Neurosci. — 2003. — Vol. 113. — P. 1381—1394.
5. Nikulina E.M., Miczek K.A., Hammer R.P., Jr. // Neuropsychopharmacology. — 2005. — Vol. 30(6). — P. 1096—1103.

Нейропротективная роль антител к глутамату при очаговой ишемии префронтальной коры головного мозга крыс

Шакова Ф.М., Ветриле Л.А.,
Давыдова Т.В., Романова Г.А.

ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАН,
Москва, 125315, Балтийская ул., 8.
E-mail: romanovaga@mail.ru

Ишемия является наиболее распространенной причиной нарушений функций мозга, причем глобальная ише-

мия мозга встречается относительно реже, чем фокальная (локальная) церебральная ишемия, возникающая при нарушении мозгового кровообращения в отдельном сосудистом бассейне (при ишемическом инсульте или транзиторной ишемической атаке). Избыточное высвобождение и нарушение обратного захвата глутамата, ведущее к внутриклеточному накоплению кальция, действует эксайтотоксически и обуславливает гибель нейронов при ишемических повреждениях мозга [1].

Наиболее адекватной экспериментальной моделью, позволяющей избирательно исследовать когнитивные расстройства, объем ишемического повреждения и изменение уровня глутамата в структурах мозга, является двустороннее локальное ишемическое повреждение префронтальной коры мозга крыс методом фототромбоза [5].

Использование фармакологических препаратов, оказывающих нейропротективное действие, способствует репаративным процессам в области пенумбры, снижает степень ишемического повреждения мозговой ткани и корректирует возникшие функциональные нарушения [1].

Одним из механизмов иммунологической защиты от токсического действия глутамата на нейроны может быть образование антител к нему, вырабатывающихся в ответ на его избыточное высвобождение в ЦНС. В настоящее время показано образование антител к глутамату (Глу-АТ) при нейродегенеративных повреждениях головного мозга [2]. В связи с этим, представляет несомненный интерес изучение образования глутамата при двустороннем очаговом ишемическом повреждении коры головного мозга, а также выяснение возможной нейропротективной роли антител к этой медиаторной аминокислоте.

Ранее было показано [3], что фотохимически индуцируемый двусторонний тромбоз кровеносных сосудов в префронтальной области коры головного мозга крыс приводит к формированию ишемического очага, который захватывает всю толщу коры и отделен от окружающей неповрежденной ткани четко выраженной границей. Такое повреждение коры сопровождается потерей выработанного до ишемии условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [3]. Вместе с тем установлено (методом ВЭЖХ с ЭД), что при этом возрастает содержание глутамата в гиппокампе и префронтальной коре [4].

Представляло несомненный интерес изучить влияние Глу-АТ на сохранение УРПИ, выработанного до нанесения ишемического повреждения коры, и уровень глутамата в структурах мозга (префронтальная кора и гиппокамп) на 8-е сутки после создания очага ишемии. В качестве способа введения Глу-АТ был выбран интраназальный путь, позволяющий быстро доставить антитела непосредственно в головной мозг. Глу-АТ вводили в острый период эксайтотоксичности глутамата, когда еще очень низок уровень эндогенных антител, т.е. через 1 час после проведения операции фотохимического тромбоза сосудов коры. Сохранение УРПИ, выработанного до операции, оценивали на 8-е сутки после фототромбоза.

Однократное интраназальное введение Глу-АТ в дозе 250 мкг/кг через 1 час после фототромбоза способствовало сохранению УРПИ у крыс с двусторонним повреждением префронтальной коры и соответствовало показателям латентного периода рефлекса у интактного контроля. Интраназальное введение Глу-АТ через 1 час после двустороннего фототромбоза приводило также к выраженной снижению содержания глутамата в префронтальной

коре головного мозга крыс как в 1-е, так и на 8-е сутки наблюдения. Введение экспериментальным животным аналогичным способом γ -глобулина от интактных кроликов не оказывало влияния на потерю выработанного до ишемии УРПИ и уровень глутамата.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов показано, что Глу-АТ при их однократном интраназальном введении через 1 час после операции снижают мнестический дефицит у крыс с двусторонним ишемическим повреждением префронтальной коры головного мозга.

Полученные результаты свидетельствуют о выраженном протективном действии Глу-АТ при остром нейродегенеративном повреждении когнитивных функций мозга, возможно, благодаря их способности снижать усиленную продукцию глутамата и тем самым предотвращать гибель нейронов.

Список литературы

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. — М., 2001. — 501 с.
2. Евсеев В.А. Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммунопатологии. — М.: Изд-во РАМН, 2007. — 144 с.
3. Романова Г.А. Дизрегуляторные нарушения интегративной деятельности мозга при фокальной ишемии коры // Дизрегуляторная патология / Под ред. Крыжановского Г.Н. — М., 2002. — С. 605—615.
4. Шакова Ф.М., Клодт П.М., Кудрин В.С., Давыдова Т.В., Романова Г.А. Защитная роль антител к глутамату при очаговом ишемическом повреждении префронтальной коры мозга крыс // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2013. — №3. — С. 19—22.
5. Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R. et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis // Ann. Neurol. 1985. — Vol. 17, №5. — P. 497—504.

Диагностическая и прогностическая значимость маркеров аутоиммунного воспаления при субклиническом атеросклерозе

Шойбонов Б.Б., Замолдчикова Т.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

В настоящее время убедительно доказано, что атерогенность сыворотки крови обусловлена присутствием множественно модифицированных липопротеинов низкой плотности (ммЛПНП), аутоантител к ним и иммунных комплексов. ммЛПНП значительно отличаются от нативных ЛПНП по физико-химическим свойствам. Так, ммЛПНП имеют пониженное содержание сиаловых кислот, маннозы и других моносахаридов. Показано, что ммЛПНП избирательно связывают и активируют C1 компонент системы комплемента, являются иммуногенными и индуцируют аутоиммунный ответ у людей. Аутоантитела к ммЛПНП являются преимущественно провоспалительными IgG1 и IgG3 изотипами и при образовании иммунного комплекса активируют классический путь системы комплемента и запускают фагоцитоз клетками, экспрессирующими Fc γ рецепторы. Одним из наиболее патогенных свойств оКЛП является взаимодействие с тромбоцитами, приводящее к их гиперреактивности и к сосудистому воспалению.

В настоящее время в клинической лабораторной практике отсутствуют доступные для рутинных исследований

реагенты и методы определения ммЛПНП и иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП (ИК-ммЛПНП). Учитывая их важную патогенетическую роль при атеросклерозе, остается актуальной разработка простых, доступных для клинических лабораторных исследований способов определения как ммЛПНП, так и ИК-ммЛПНП. Ранее нами были разработаны способы экспресс-определения ммЛПНП и ИК-ммЛПНП [1, 2].

Цель исследования — определение диагностической и прогностической значимости маркеров аутоиммунного воспаления при субклиническом атеросклерозе.

Материалы и методы. В работе исследовали сыворотки крови 23 здоровых доноров, 60 больных с инструментально подтвержденным атеросклерозом каротидных артерий. Забор крови проводили натощак из локтевой вены, отделяли сыворотку и определяли уровень содержания ммЛПНП по методике, описанной в работе [1], уровень холестерина в иммунных комплексах определяли по методике, описанной в работе [2]. Кратко: сыворотку крови обрабатывали Буфером-1 (10 mM трис-HCl-буфер, содержащий 8,3% ПЭГ-3350, 3,3% ПВП 12600, 0,15 M NaCl, pH 7,4) для преципитации ИК в соотношении 1:1,2 с последующей инкубацией в течение 10 мин при 23°C. Агрегированные ИК осаждали центрифугированием при 3100 g в течение 10 мин при 23°C, тщательно декантировали и преципитат ИК растворяли в исходном объеме сыворотки в Буфере-2 (10 mM трис-HCl-буфер, содержащий 0,15 M NaCl, pH 7,4), содержание холестерина в иммунных комплексах определяли с использованием ферментативного набора «Холестерин» («ЭКОлаб», Россия). С использованием ультразвукового сканирования сонных артерий оценивали наличие атеросклеротических бляшек по 4-балльной системе (0 — отсутствие возвышенных атеросклеротических поражений; 1—2 — стабильные атеросклеротические бляшки со стенозом просвета сосуда до 20% и от 20 до 70% соответственно; 3 — гемодинамически значимые атеросклеротические бляшки со стенозированием более 70% просвета сонных артерий), а также измеряли толщину комплекса интима-медиа общей сонной артерии на дистальном отрезке протяженностью 1 см в трех проекциях. Исследование проводили на аппарате SSI-1000 (Sonoscare, Китай).

Атерогенность иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП исследовали в реакции связывания компонента морской свинки и рассчитывали как отношение степени связывания компонента к ХИК в ЕД, как описано в работе [3].

Результаты исследования.

I. Проведены исследования уровня содержания ммЛПНП в сыворотках крови 23 здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 58 лет. В 14 пробах (61%) выявлен повышенный уровень ммЛПНП (выше 8 ЕД). Дальнейшие исследования доплерографией состояния интима-медиа комплекса (ИМК) брахиоцефальных артерий лиц с повышенным уровнем ммЛПНП выявили в 100% признаки доклинической стадии атеросклероза в виде утолщения ИМК подключичной артерии у 12 чел. и атеросклеротические бляшки в сонных артериях у 2 чел. Содержание ммЛПНП у лиц без изменений ИМК в брахиоцефальных артериях колебалось от 6,5 ЕД до 7,8 ЕД (средняя величина составила $7,1 \pm 0,5$ ЕД). Таким образом, повышенный уровень ммЛПНП в сыворотке крови относи-

тельно здоровых лиц полностью был связан с изменениями ИМК в брахиоцефальных артериях.

II. Проведены исследования содержания холестерина в иммунных комплексах (ХИК) у этих же добровольцев. Содержание ХИК было повышено у 13 лиц из 14 с доклинической стадией атеросклероза ($>$ или = 8,4 мг/дл). Уровень ХИК колебался от 8,4 мг/дл до 38 мг/дл (средняя величина составила $20,0 \pm 8,7$ мг/дл). Только у одного из группы с доклинической стадией атеросклероза (с изменениями ИМК) ХИК был в пределах нормальных значений. Дальнейшие исследования атерогенности ИК, содержащих ммЛПНП, выявили у них высокий комплемент активирующий потенциал этих комплексов. ХИК в группе здоровых лиц составила $5,5 \pm 1,5$ мг/дл. Таким образом, чувствительность метода определения ХИК составила 93%. Нормальный уровень ХИК при повышенном уровне ммЛПНП свидетельствует о высоком атерогенном потенциале ИК, содержащих ммЛПНП. III. Исследования комплемент активирующих свойств ИК, содержащих ммЛПНП и расчет коэффициента атерогенности из 23 чел. выявили у 12 лиц с изменениями ИМК брахиоцефальных артерий довольно низкие значения на уровне от 0,5 до 2,3 ЕД ($1,3 \pm 0,4$ ЕД). Данный показатель у здоровых лиц колебался от 3,0 до 4,0 ЕД, в среднем $3,7 \pm 0,4$ ЕД. Только у одного человека, у которого был выявлен повышенный уровень ммЛПНП и изменения ИМК в артериях при нормальном уровне ХИК, коэффициент составил 7,3 ЕД, т.е. был достоверно повышенным и свидетельствовал об агрессивном течении атеросклеротического процесса в молодом возрасте (27 лет). Низкий уровень коэффициента атерогенности ИК-ммЛПНП свидетельствует о низкой комплемент активирующей способности данных комплексов, что в конечном итоге приводит к нарушению солюбилизации и элиминации ИК. В то же время, учитывая высокий атерогенный потенциал ммЛПНП, низкий уровень коэффициента атерогенности ИК-ммЛПНП свидетельствует об антиатерогенном характере аутоиммунной реакции организма человека на ммЛПНП. С другой стороны, высокое значение данного показателя может свидетельствовать о высоком атерогенном потенциале ИК-ммЛПНП и об агрессивном течении атеросклероза. В данном случае только у одной молодой женщины в возрасте 27 лет был определен высокий коэффициент атерогенности ИК-ммЛПНП при нормальном уровне ХИК, который свидетельствует о быстрой элиминации ИК-ммЛПНП. Данный факт подтверждают исследования коэффициента атерогенности ИК-ммЛПНП у больных с клинически выраженным атеросклерозом (более 10 ЕД). Таким образом, коэффициент атерогенности ИК-ммЛПНП является индикатором аутоиммунной реакции организма на ранних стадиях субклинического атеросклероза.

Выводы. Установлен референсный уровень ммЛПНП у здоровых людей, который подтвержден отсутствием изменений интима-медиального комплекса брахиоцефальных артерий. Критическим уровнем ммЛПНП в сыворотке крови человека является величина равная 8 ЕД. Показано, что повышенный уровень ммЛПНП (более 8,0 ЕД) является достоверным биохимическим маркером субклинической стадии атеросклероза, который подтвержден инструментальным методом с использованием доплерографии сонных артерий. Показано, что ХИК является иммунным маркером субклинической стадии атероскле-

роза (чувствительность 93%). Разработан новый функциональный коэффициент атерогенности ИК-ммЛПНП, характеризующий характер аутоиммунной реакции организма человека.

Список литературы

1. Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Кубатиев А.А. Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2012. — №2. — С. 77–83.
2. Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Кубатиев А.А. Экспресс-способ определения холестерина в иммунных комплексах // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2013. — №4. — С. 109–114.
3. Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Толпыго С.М. и др. Способ определения атерогенности иммунных комплексов // Заявка на изобретение №2013156451 от 19.12.2013 г.

Экспрессия гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере при ишемии головного мозга

*Якушева Е.Н., Щулькин А.В.,
Черных И.В., Виноградов И.Ю.*

ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Россия

Гликопротеин-Р — АТФ-зависимый белок-транспортер, участвующий в эффлюксе липофильных био- и ксенобиотиков. Локализуясь в эндотелиальных клетках гематоэнцефалического барьера, гликопротеин-Р препятствует проникновению веществ, являющихся его субстратами, в мозг [1]. Повышение экспрессии данного белка-транспортера в гематоэнцефалическом барьере может приводить к снижению проникновения лекарственных препаратов в головной мозг и, как следствие, к снижению эффективности фармакотерапии.

Цель настоящего исследования — изучить экспрессию гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере при ишемии головного мозга в эксперименте.

Материалы и методы. Работа выполнена на крысах Вистар массой 250–300 г. Ишемия головного мозга моделировалась двухсторонней перевязкой общих сонных артерий под зоветиловым наркозом. Через 30 мин, 1, 1,5, 4 часа после перевязки животные выводились из эксперимента. На каждую временную точку приходилось по 5 животных. Для исследования забиралась кора лобных долей больших полушарий, которая фиксировалась в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Для детекции (выявления) гликопротеина-Р срезы инкубировали с первичными антителами к гликопротеину-Р (Mdr-1 3H2833: sc-71557 «Santa Cruz Biotechnology, INC», США) с дальнейшим окрашиванием полимерной системой детекции с пероксидазной меткой («ДАКО», Дания). Ядра клеток докрашивали гематоксилином. Микропрепарат фотографировали с помощью цифровой камеры ЛОМО ТС-500 (Россия) при увеличении в 400 раз. В каждом гистологическом препарате оценивали 10 репрезентативных участков (10 фотографий). С помощью программы для анализа и обработки цифровых изображений ImageJ («NIH», США) вычисляли относительную площадь гематоэнцефалического барьера, экспрессирующего гликопротеин-Р, которая рассчитывалась автоматически как отношение площади гематоэнцефалического барьера, экспрессирующего гликопротеин-Р (pix^2), к общей площади поля зрения (pix^2).

Полученные данные обрабатывали тестом ANOVA (при нормальном распределении данных) или Круска-

ла—Уоллиса (при распределении данных отличным от нормального). Межгрупповые различия определяли по критерию Ньюмена—Кейсла.

Результаты. У интактных животных относительная площадь гематоэнцефалического барьера, экспрессирующего гликопротеин-Р составила $4,69 \pm 0,8\%$. Развитие ишемии головного мозга приводило к усилению экспрессии белка-транспортера, что проявлялось увеличением относительной площади барьера через 30 минут после перевязки общих сонных артерий на 57,6% ($p < 0,05$), через 1 час — на 44,7% ($p < 0,05$), через 1,5 часа — на 115,4% ($p < 0,05$), а через 4 часа — на 41,2% ($p < 0,05$) по сравнению с данными интактных крыс.

При этом через 4 часа после развития ишемии головного мозга отмечались признаки повреждения гематоэнцефалического барьера.

Полученные результаты согласуются с данными литературы. Ранее установлено, что при моделировании 2-часовой ишемии головного мозга у крыс проницаемость гематоэнцефалического барьера существенно не изменялась через 2—3 часа от начала патологии, однако уже через 4 часа после ишемического воздействия экстравазация красителя была повышена на 179% по сравнению с интактными крысами [3].

Видимо, усиливающаяся экспрессия гликопротеина-Р в ранние сроки ишемии оказывает защитное действие,

сдерживая растущую проницаемость гематоэнцефалического барьера. Через 4 часа после ишемии повреждение гематоэнцефалического барьера оказывается настолько выраженным, что повышенной экспрессии гликопротеина-Р оказывается недостаточно для эффлюкса проникающих субстратов.

Согласно данным литературы, важную роль в регуляции экспрессии гликопротеина-Р при гипоксии играют транскрипционные факторы HIF-1 α (Hypoxia-inducible factor 1) и Sp1 (Specificity protein 1), повышенный уровень которых усиливает синтез белка-транспортера [2].

Вывод. Развитие острой ишемии головного мозга приводит к повышению экспрессии гликопротеина-Р в гематоэнцефалическом барьере.

Список литературы

1. Якушева Е.Н. и др. Структура, функции гликопротеина-Р и его значение для рациональной фармакотерапии // *Обзоры по клин. фармакол. лекарст. терап.* — 2014. — №2. — С. 3—11.

2. Comerford K.M. et al. Hypoxia-inducible Factor-1-dependent Regulation of the Multidrug Resistance (MDR1) Gene // *Cancer Res.* — 2002. — Vol. 62. — P. 3387.

3. Belayev L. et al. Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats // *Brain Research.* — 1996. — Vol. 739, №1—2. — P. 88—96.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 14-04-97522;р центр а.