

Тезисы докладов

Нейро-иммуно-эндокринные взаимодействия при острых бактериальных и вирусных нейроинфекциях у детей

Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В., Говорова Л.В., Монахова Н.Е.

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

При острых нейроинфекционных заболеваниях синтез гормонов и медиаторов иммунного ответа, их кооперативное взаимодействие обеспечивают организацию защитных реакций, направленных на элиминацию возбудителя. При нарушении этих процессов или их дисбалансе повреждение нервной ткани может быть необратимым и сопровождаться формированием неврологического дефицита. К показателям, характеризующим нейро-иммуно-эндокринные взаимодействия при инфекционных заболеваниях, относятся кортизол, соматотропный гормон (СТГ), про- и противовоспалительные цитокины, белки острой фазы.

Цель настоящей работы — изучение динамики гормонов, цитокинов, белков острой фазы и их взаимосвязи у детей с бактериальным гнойным менингитом (БГМ) и вирусным энцефалитом (ВЭ). Обследовано 24 пациента в возрасте 6–15 лет, из них 16 детей с БГМ и 8 с ВЭ. Концентрации кортизола, СТГ, цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИНФ- γ) в сыворотке крови исследовали методом иммуноферментного анализа, С-реактивного белка (СРБ), α 2-макроглобулина (α 2-МГ) — методом количественной иммунотурбидиметрии. Больные обследованы в 1, 3 и 7 сутки после поступления в стационар. Данные обработаны статистически и сопоставлены с показателями контрольной группы (10 детей с ОРВИ) или с референсными значениями, указанными в тест-системах. Уровень исследуемых показателей при БГМ и ВЭ отличался от контрольной группы и референсных значений. В остром периоде БГМ обнаружено достоверное увеличение кортизола (в среднем 2768,7 \pm 194,1 нмоль/л против 490 \pm 23 нмоль/л в контроле), СТГ (32,6 \pm 8,5 мМЕ/л против 3 \pm 0,03 мМЕ/л в контроле), СРБ — (232,4 \pm 24,8 мг/л против 2,9 \pm 1,1 мг/л в контроле). Концентрации всех исследованных цитокинов превышали референсные значения в 3–10 раз. Не отличались от контрольных значений концентрации α 2-МГ. Установлены положительные корреляционные взаимосвязи между кортизолом, СРБ, ИЛ-1 β и ИЛ-6 и слабые отрицательные взаимосвязи между СТГ, ИЛ-8, ИЛ-10, ИНФ- γ . В остром периоде ВЭ также значительно увеличены концентрации гормонов (кортизол в среднем 1137,2 \pm 433,0 нмоль/л, СТГ 35,8 \pm 12,6 мМЕ/л) и цитокинов. В отличие от БГМ увеличена концентрация α 2-МГ (260,6 \pm 23,3 мг/дл при норме 211,7 \pm 8,0 мг/дл), умеренно увеличена концентрация СРБ при ВЭ (6,9 \pm 2,2 мг/л), не отличалась от референсных значений концентрация ИЛ-10. Установлена отрицательная корреляционная взаимосвязь между кортизолом и противовоспалительными цитокинами, положительная между СТГ, ИЛ-10 и СРБ. Исследования в динамике показали быструю нормализацию уровня гормонов, СРБ, а также большинства исследованных цитокинов, за исключением ИНФ- γ и ИЛ-1 β при БГМ, ИЛ-1 β и ИЛ-8 — при ВЭ.

Таким образом, острые бактериальные и вирусные нейроинфекции у детей различаются динамикой гормонов, цитокинов и белков острой фазы. Различия в силе и направленности корреляционных взаимосвязей отражают

патогенетические особенности развития нейро-иммуно-эндокринного взаимодействия при вирусной и бактериальной природе инфекционного процесса.

Оценка показателей цитокинового статуса у больных с травматическими повреждениями и опухолевыми поражениями верхнешейного отдела позвоночника

Бажанов С.П., Ульянов В.Ю.

ФГБУ «СарНИИТО» МЗиСР РФ, Саратов, Россия

Цель: изучить спонтанную и индуцированную продукцию интерферона- α и интерферона- γ в сыворотке крови у больных с травматическими повреждениями и опухолевыми поражениями верхнешейного отдела позвоночника.

Материал и методы. Объект исследования составили 30 больных: 17 больных с травматическими повреждениями верхнешейного отдела позвоночника и 13 больных со злокачественными первичными и метастатическими опухолями уровня краниовертебрального перехода. Иммунологические исследования проводились перед проведением хирургического вмешательства и назначением комплексного лечения. Параметры цитокинового звена иммунитета (интерферон- α , интерферон- γ) исследовались с помощью иммуноферментных методов с использованием стандартных наборов фирмы «TRINITY» (Ирландия) и микрофотозлектроколориметра EL-400 («LABSYSTEM», Финляндия) в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

Результаты. В группе больных с травматическими повреждениями верхнешейного отдела позвоночника (n=17) отмечены следующие показатели (M \pm m, где M — среднее значение показателя, m — ошибка среднего значения показателя): спонтанная продукция ИФН- α (пг/мл) 7,8 \pm 3,81; индуцированная продукция ИФН- α (пг/мл) 51,2 \pm 7,21; спонтанная продукция ИФН- γ (пг/мл) 115,3 \pm 73,97; индуцированная продукция ИФН- γ (пг/мл) 1017,2 \pm 398,33. В группе больных со злокачественными опухолями уровня краниовертебрального уровня (n=13) отмечены следующие показатели (M \pm m): спонтанная продукция ИФН- α (пг/мл) 6 \pm 2,37; индуцированная продукция ИФН- α (пг/мл) 33,9 \pm 9,86; спонтанная продукция ИФН- γ (пг/мл) 93 \pm 26,3; индуцированная продукция ИФН- γ (пг/мл) 345,4 \pm 176,85.

Выводы. В группе больных опухолевыми поражениями верхнешейного отдела позвоночника показатели цитокинового статуса были достоверно ниже, что связано с негативным влиянием неопластического процесса на иммунную систему.

Оценка показателей клеточного звена иммунитета у больных с травматическими повреждениями и опухолевыми поражениями верхнешейного отдела позвоночника

Бажанов С.П., Ульянов В.Ю.

ФГБУ «СарНИИТО» МЗиСР РФ, Саратов, Россия

Изучение структурно-функциональных нарушений иммунитета и специфической активации отдельных иммунных механизмов является важным для назначения адекватного комплексного лечения, в том числе неспецифической и специфической иммунотерапии.

Цель: изучить параметры клеточного звена иммунного ответа у больных с травматическими повреждениями и

опухолевыми поражениями верхнешейного отдела позвоночника.

Материал и методы. Объект исследования составили 30 больных: 17 больных с травматическими повреждениями верхнешейного отдела позвоночника и 13 больных с первичными и вторичными злокачественными опухолями уровня краниовертебрального перехода, находившихся на стационарном лечении в ФГБУ «СарНИИТО» в период с 2010 по 2012 гг. Иммунологические исследования проводились перед проведением хирургического вмешательства и назначением комплексного лечения. Основным методом оценки клеточного иммунитета являлось определение популяционной и субпопуляционной структуры лимфоидных клеток в периферической крови, которые выявляли методом иммунофенотипирования (микрولىмфоцитотоксического теста). Для достоверной оценки параметров клеточного звена иммунного ответа рассчитывались как количественные, так и качественные показатели.

Результаты и их обсуждение. У больных с травматическими повреждениями ($n=17$) показатели клеточного иммунитета достоверно не изменялись, в то время как у больных с метастатическим поражением краниовертебрального перехода ($n=13$) отмечено достоверное ($p<0,05$) уменьшение: уровня CD 3+ (Т-лимфоцитов); CD3+CD8+(Т-киллеров); фактора неспецифической противоопухолевой резистентности (цитотоксической активности НК-клеток). Уменьшение вышеуказанных параметров позволяет судить о депрессорном влиянии неопластического процесса на клеточное звено иммунитета у больных опухолевым поражением уровня краниовертебрального перехода.

Выводы. Изучение клеточного звена иммунитета является актуальным для понимания механизмов сохранения, поддержания и укрепления иммунного гомеостаза, что позволит своевременно назначить адекватное комплексное лечение и улучшить ближайшие и отдаленные результаты у данной категории больных.

Иммунорегуляция болевой чувствительности при аддикции

Батухтина Е.И.¹, Невидимова Т.И.¹, Бохан Н.А.¹, Ветлугина Т.П.¹, Ветрилэ Л.А.², Давыдова Т.В.², Найденова Н.Н.¹, Савочкина Д.Н.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН (ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН), Томск, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН (ФГБУ «НИИОПП» РАМН), Москва, Россия

Взаимосвязь анальгезии и эйфории, опосредованная системой эндогенных или экзогенных опиоидов, представляется совершенно очевидной, но не находит прямых клинических доказательств при оценке предрасположенности к употреблению наркотиков. Изучение наиболее вероятных иммунологических механизмов взаимосвязи болевой чувствительности с формированием влечения к психоактивным веществам (ПАВ), касающихся интерлейкинового (ИЛ) звена и аутоантител к нейромедиаторам, также приносит неоднозначную информацию. Дополнительные трудности в интерпретацию этих взаимосвязей вносит переход от экспериментальных моделей к клинической практике.

В результате многофакторного анализа данных комплексного иммунофизиологического обследования 318 лиц

в континууме выраженности наркотизации (116 лиц, не употребляющих ПАВ, 28 эпизодически употребляющих ПАВ, 40 злоупотребляющих ПАВ и 134 зависимых от ПАВ) (Невидимова Т.И. с соавт., 2009; Батухтина Е.И. с соавт., 2011) удалось выявить следующее.

У аддиктов мужского пола обнаружено снижение уровня ИЛ-8 в сыворотке крови и возрастание субъективной общей и текущей оценки боли по отношению к группе сравнения. У наркозависимых лиц мужского пола с более выраженной степенью феминности отмечены сниженные болевые пороги в тензоалгометрическом тесте, тенденция к повышению продукции ИЛ-6 и ИЛ-1 β , наличие выраженных клинических и лабораторных признаков иммунологической недостаточности. В группе юношей, не употребляющих ПАВ, как и у наркозависимых лиц, недостаточная маскулинность сочеталась со сниженными болевыми порогами и повышенной продукцией ФНО- α и ИЛ-1 β , но эти особенности не сопровождалась иммунологической недостаточностью. У маскулинизированных наркологических пациенток отмечено значимое снижение продукции ФНО α и возрастание верхнего порога болевой чувствительности по отношению к группе сравнения.

Иммунофизиологическая характеристика групп риска выглядит еще более сложной и неоднозначной. Эпизодическое употребление ПАВ вне зависимости от пола сочетается с ростом агрессивности, маскулинности, понижением уровня антител к норадреналину и тенденцией к понижению болевой чувствительности. Предрасположенность к злоупотреблению ПАВ базируется у юношей на незавершенности пубертатного периода в сочетании с высоким уровнем тревожности и возрастанием различий между верхним и нижним болевыми порогами. Это может свидетельствовать как об увеличении чувствительности к боли из-за недостаточности эндогенных опиатных систем, так и о демонстративно высоком уровне переносимости боли, который часто ассоциируется у подростков с проявлением мужественности (декларируемая маскулинность, подтверждаемая уровнем гендерного индекса, характерна для группы риска).

По крайней мере в части случаев нарушение гендерной самоидентификации повышает риск формирования зависимости от ПАВ через механизмы нейроиммунопатологии и гиперальгезии с вовлечением цитокинов и/или аутоантител.

Работа поддержана грантом РГНФ 12-06-00673.

Морфология селезенки у крыс с различной поведенческой активностью на фоне введения пептида, вызывающего дельта-сон

Бахмет А.А., Колик Е.В.

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина, РАМН,
Москва, Россия*

Исследована микротопография лимфоидных образований селезенки и клеточный состав в мазках периферической крови у 212 крыс Вистар с различным типом поведенческой активности (по тесту «открытого поля») у контрольных групп в условиях эмоционального стресса (одночасовая иммобилизация с аperiодической электрокожной стимуляцией) через 1 ч, а также на 3-й и 14-е и 30-е сутки после стрессорной нагрузки и экспериментальных групп (с введением пептида, вызывающего дельта-сон (ПВДС) за 1 ч до стрессорной нагрузки). Экспери-

мент был проведен в соответствии с соблюдением основных биоэтических правил проведения работ с использованием экспериментальных животных. Микроскопическая анатомия функционально активных зон селезенки изучалась с помощью современных гистологических и иммуногистохимических методов.

Процентное содержание малых лимфоцитов в периаартериальных лимфоидных муфтах (ПАЛМО селезенки крыс через час после эмоционального стресса (ЭС) в среднем снижалось в 1,2 раза по сравнению с данными контрольных групп животных. Содержание малых лимфоцитов после введения ПВДС без стрессового воздействия у устойчивых крыс увеличивалось до 62,3% или $14,5 \pm 0,2$ клетки (в контроле 50,9% или $13,6 \pm 0,1$ клетки) ($p < 0,05$). У поведенчески пассивных крыс после введения ПВДС без стрессового воздействия значение данного показателя возрастало до 53,2% или $21,6 \pm 0,1$ клетки, (в контроле — 39,2% или $17,6 \pm 0,07$ клетки) ($p < 0,05$). Содержание малых лимфоцитов после одночасового стрессового воздействия с предварительным введением ПВДС у поведенчески активных крыс возрастало незначительно, до 51,3%, или $15,2 \pm 0,2$ клетки (в контроле 50,9%, или $13,6 \pm 0,1$ клетки). У пассивных крыс, испытавших ЭС с предварительным введением ПВДС значение данного показателя практически не изменялось, по сравнению с контролем и составило 37,6% или $15,4 \pm 0,2$ клетки (в контроле — 39,2% или $17,6 \pm 0,07$ клетки). Клетки с признаками деструкции в ПАЛМ селезенки контрольных (как пассивных, так и активных) животных обнаруживались в единичных случаях. На 3-и сутки после одночасового стрессового воздействия содержание этих клеток как у поведенчески пассивных, так и у активных крыс, возрастало до 8,6 и 3,7% (или $8,0 \pm 3,2$ клетки) соответственно по сравнению с данными контрольных групп. На 3-и сутки после одночасового стрессового воздействия с предварительным введением ПВДС относительное содержание этих клеток как у пассивных, так и активных крыс увеличивалось всего до 3,5 и 2,5% (или 3,0 и 2,4 клетки), соответственно, по сравнению с данными контрольных групп. В периферической крови у крыс (как пассивных, так и активных) испытавших эмоциональное стрессорное воздействие с предварительным введением ПВДС, не наблюдается лимфоцитопении и нейтрофильного лейкоцитоза по сравнению с группами животных, испытавших стрессорную нагрузку без предварительного введения ПВДС.

Таким образом, показано, что предварительное введение крысам ПВДС уменьшает макрофаго-пролиферативные и деструктивные процессы в функционально активных зонах селезенки у крыс (через 1 ч, на 3-й и 14-е сутки после стрессового воздействия). Это свидетельствует о способности ПВДС уменьшать неблагоприятное влияние одночасовой эмоциональной нагрузки на макрофаго-пролиферативные и деструктивные процессы в функционально активных зонах этого органа.

Рефлекторная нейроиммунотерапия: практическая реализация достижений современной нейроиммунопатологии

Василенко А.М.

ФГБУН «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии» Минздрава России, Москва, Россия

В настоящее время в решении лечебно-профилактических задач в области клинической нейроиммунопатологии доминируют методы фармакологической иммуномо-

дуляции. На долю иммуномодуляции физическими факторами приходится только 4,8% от общего числа публикаций по иммуномодуляции. Преимущества применения нефармакологической иммуномодуляции заключаются в более широком диапазоне лечебного действия, практически полном отсутствии побочных эффектов и осложнений, возможностью комплексного использования с лекарственными препаратами.

Современная методология рефлексотерапии (РТ) основана на представлении о взаимном отражении процессов, протекающих во внутренней среде организма и его экстероцептивных зонах, в частности, кожной нейроэндокриноиммунной системе (КНЭИС). Точки акупунктуры (ТА) представляют собой локусы наиболее концентрированного представительства элементов КНЭИС. Стимуляция ТА вызывает выделение множества субстанций, осуществляющих сочетанную регуляцию ноцицептивных и иммунных реакций. Особенности морфофункциональной организации ТА обеспечивают их «специализацию» в качестве периферических систем восприятия ноцицептивной и иммунологической информации. Концепция КНЭИС подводит современный теоретический базис под многочисленные наблюдения эффективности РТ в различных областях клинической медицины и является основанием для введения термина «рефлекторная нейроиммунотерапия» (РНИМ). Литературные данные и результаты собственных исследований дают основание рассматривать РНИМ как наиболее естественный и безопасный подход к иммунореабилитации.

Инвазивные методы РТ в виде традиционного иглоукальвания и прижигания можно представить как миниатюрные модели естественных повреждающих воздействий, на которые организм реагирует выработанными в процессе эволюции сопряженными нейроэндокринными и иммунными реакциями. В этом заключается биологически обусловленное уникальное действие механических и термических стимулов на ТА. Однако в современной РТ всё чаще используются неинвазивные низкоэнергетические факторы, которые на субъективном уровне не распознаются как ноцицептивные. Годятся ли приведенные выше построения для объяснения механизмов их саногенетического действия? Стимуляция ТА, адресующаяся не только к системе сопряженной регуляции ноцицепции и иммунитета, но и к эволюционно ещё более древней функциональной системе электромагнитного гомеостаза, в общем виде объясняет механизм саногенетического действия неинвазивных факторов малой и сверхмалой энергии.

Таким образом, РНИМ может применяться как в виде классических методов иглоукальвания и прижигания, так и неинвазивных низкоэнергетических воздействий (лазеропунктура, КВЧ-пунктура и др.). В отличие от введения лекарственных иммуномодулирующих средств действие РНИМ осуществляется с включением не только гуморальных, но и нервных механизмов. Хорошо зарекомендовал себя и предложенный нами ранее комбинированный метод фармакопунктурной нейроиммунотерапии, основанный на введении в ТА препаратов, обладающих одновременно нейро- и иммунотропным действием. Метод оказался весьма эффективным в лечении посттравматических стрессорных расстройств у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС и толерантных к фармакопрепаратам аллергодерматозов.

Нейроиммунная дисрегуляция в патодинамических механизмах опийной наркомании

Ветлугина Т.П., Бохан Н.А., Матафонова Е.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН (ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН), Томск, Россия

Приведено клинико-иммунологическое обследование больных опийной наркоманией на разных этапах синдрома отмены: при поступлении больных в стационар в первые сутки отнятия наркотика (58 чел.); на 7-е сутки интенсивной терапии абстинентного синдрома (78 чел.); на 21—28-й день от начала лечения постабстинентного состояния (69 чел.). Первый этап обозначен нами как опийный абстинентный синдром (ОАС), второй — как постабстинентное состояние (ПАС), третий — как становление терапевтической ремиссии (ТР). Вторую и третью группы составили одни и те же пациенты, часть из которых к концу исследования были самостоятельно или по решению лечащего врача.

Анализ соотношений клинических и биологических параметров показал, что нарушения в иммунной, гормональной, нейромедиаторной системах организма при опийной наркомании имеют свои особенности и стабильные закономерности на разных этапах синдрома отмены наркотика. Основной психонейроиммунный паттерн в динамике абстинентного синдрома опийной наркомании характеризуется количественным дефицитом популяций CD4⁺-лимфоцитов, повышенным количеством активированных Т-лимфоцитов HLA-DR⁺-фенотипа, активацией гуморальных факторов иммунитета, повышением количества циркулирующих лимфоцитов, имеющих рецепторы к серотонину и дофамину, высокой концентрацией кортизола в крови больных. При опийном абстинентном синдроме выявлена высокая сопряженность между компонентами иммунной системы, параметрами клеток красной крови, биохимическими показателями.

После купирования ОАС на этапах ПАС и ТР выявлены патофизиологические терапевтически устойчивые нейроиммунные сопряжения. Длительное потребление опиатов более 4 лет (6,33±2,13) приводило к снижению зрелых Т-лимфоцитов CD3⁺, хелперов/индукторов CD4⁺, повышению сывороточных иммуноглобулинов, особенно, IgM. В этой группе отмечена наиболее высокая концентрация кортизола, а также количество периферических лимфоцитов с рецепторами к серотонину и дофамину, значительно превышающие соответствующие значения в группе здоровых людей. Употребление высоких, более 10 торговых доз наркотика (22,55±7,49) сопровождается устойчивым снижением общей популяции Т-лимфоцитов CD3⁺-фенотипа, хелперов/индукторов CD4⁺; количество дофаминопозитивных лимфоцитов в 3 раза превышало показатель нормы и оставалось высоким на этапе формирования терапевтической ремиссии до конца срока наблюдения. Установлено, что максимальная толерантность, стаж потребления были взаимосвязаны с высокими показателями гуморального иммунитета (IgM, IgG, ЦИК, В-лимфоцитов), отчетливо демонстрируя прямую зависимость длительности и дозы употребляемого наркотического вещества с интенсивностью нарушений в системе иммунитета. Неблагоприятным фактором, усиливающим нейроиммунную дисрегуляцию, является ранний возраст начала потребления наркотиков (12—16 лет), который коррелировал с низкими показателями лимфоцитов, экспрессирующих CD3-, CD8-рецепторы; нарушением соотношения Т-хелперов/Т-супрессоров, наиболее

высоким уровнем циркулирующих иммунных комплексов, антител к мозгоспецифическому белку S-100, количеством периферических лимфоцитов с рецепторами к серотонину и дофамину.

Влияние антител к глутамату на свободнорадикальное окисление липидов в гипоталамусе и гиппокампе крыс при стрессе

Ветрилэ Л.А., Лыско А.И., Захарова И.А., Кучеряну В.Г.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Многие центральные аспекты стресс-ответов включают в себя активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГН). Глутамат играет одну из ведущих ролей в центральной интеграции ГГН стресс-ответа. Ранее нами установлено стресспротективный эффект антител к глутамату при разных способах их введения: активной иммунизации, внутривентрикулярном и интраназальном введении. Многочисленные данные литературы свидетельствуют об активации при стрессе процессов свободнорадикального окисления липидов, снижении активности антиоксидантной системы, а также о нарушении баланса между этими двумя системами. В связи с этим целью настоящей работы было изучение влияния антител к глутамату при интраназальном введении на процессы свободнорадикального окисления липидов в гипоталамусе и гиппокампе при стрессе.

Методика и результаты исследования. Опыты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 200—250 г. Антитела к глутамату получали в виде γ -глобулиновой фракции путем выделения из сывороток крови гипериммунизированных конъюгатом глутамат—бычий сывороточный альбумин кроликов. Выделенные антитела к глутамату очищали от примесей антител к белку носителя методом аффинной хроматографии с использованием сефарозы 4В, активированной бромцианом и иммобилизованной на ней бычьего сывороточного альбумина. Гамма-глобулин, полученный из сывороток крови интактных кроликов, применяли в качестве контроля. Стрессорное воздействие воспроизводили, помещая крыс в жилую клетку с водой (21°C), покрытую сеткой, на 30 мин. Антитела к глутамату и γ -глобулин в дозах 250 мкг/кг веса в объеме 10 мкл вводили интраназально сразу после стрессорного воздействия. Через 1 ч после стресса у всех крыс исследовали двигательную активность в открытом поле (ОП) и определяли суммарный показатель двигательной активности, представляющий собой сумму количества пересеченных квадратов, стоек и исследуемых объектов. По окончании опыта крыс всех групп декапигировали, структуры мозга (гиппокамп и гипоталамус) выделяли на льду и замораживали в жидком азоте. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов определяли в липидном экстракте, полученном из гипоталамуса и гиппокампа. При этом определяли содержание продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКП, малонового диальдегида) и выражали в нмолях/г белка ткани. Было исследовано 4 группы животных: контрольная группа (интактные животные, получавшие интраназально физиологический раствор), группа стрессированных крыс, которым сразу после стресса интраназально вводили физиологический раствор, группа животных, которым вводили антитела к глутамату сразу после стресса и группа животных, получавшие интраназально сразу после стресса γ -глобулин интактного кролика.

Стресс вызвал у крыс существенное (в 3 раза) снижение суммарного показателя двигательной активности в ОП. Интраназальное введение сразу после стресса антител к глутамату снижало выраженность стрессорных поведенческих реакций. Суммарный показатель активности крыс, получавших сразу после стресса антитела к глутамату, практически не отличался от показателя в контрольной (интактной) группе и составил $27,3 \pm 4,4$ и $29,1 \pm 3,5$ соответственно. Введение сразу после стресса γ -глобулина интактного кролика не оказывало влияния на выраженность поведенческих реакций у крыс. Следовательно, антитела к глутамату при интраназальном введении сразу после стресса оказывали защитное действие.

Исходный уровень ТБКП в гомогенатах гипоталамуса и гиппокампа крыс контрольной группы составил $202,24 \pm 11,10$ и $221,08 \pm 9,75$ нмоль/г белка ткани соответственно. Острая стрессорная нагрузка вызвала снижение содержания ТБКП в гипоталамусе до $168,60 \pm 9,16$ нмоль/г ($p < 0,04$). В то же время стресс не оказывал влияния на уровень ТБКП в гиппокампе. Интраназальное введение антител к глутамату сразу после стресса способствовало восстановлению содержания ТБКП в гипоталамусе практически до значения в группе интактного контроля и составило $194,80 \pm 6$ нмоль/г белка. Уровень ТБКП в гипоталамусе крыс, получавших интраназально γ -глобулин интактного кролика (контроль по отношению к антителам) практически не отличался от уровня в группе стрессированных крыс, получавших физиологический раствор, и составил $154,30 \pm 6,53$ нмоль/г белка ткани. Таким образом, иммобилизационный стресс вызывает нарушение регуляции процесса свободнорадикального окисления липидов в гипоталамусе. Антитела к глутамату способствуют стабилизации процесса и оказывают стресспротективное действие.

Нейромодулирующее влияние антител к глутамату на поведенческие реакции и уровень нейромедиаторов в ЦНС у крыс при иммобилизационном стрессе

Ветрилэ Л.А.¹, Захарова И.А.¹, Кудрин В.С.², Клодт П.М.²

¹ ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

² ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН, Москва, Россия

Известно, что первичной реакцией на стрессорные нагрузки являются изменения в ЦНС, особенно в лимбических структурах мозга, и стресс-реакция сопровождается значительным изменением обмена нейромедиаторов в ЦНС. Данные процессы сопровождаются образованием аутоантител к нейромедиаторам, которые могут препятствовать прогрессированию нарушений ЦНС, связывая избыточное количество нейротрансмиттеров и их метаболитов в головном мозге и в циркуляции, либо усугублять эти нарушения при стойком изменении баланса нейромедиаторных функций мозга при стресс-синдромах. Многие центральные аспекты стресс-ответов, включая активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и дофаминовой нейротрансмиттерной системы, модулируются, а в некоторых случаях опосредуются, глутаматергической системой. Показана роль NMDA рецепторов в контроле выделения биогенных аминов. Современные данные свидетельствуют и о большой роли ГАМКергической системы в модуляции стресс-ответов.

В опытах на крысах на модели комбинированного иммобилизационного стресса было установлено образование аутоантител к нейромедиаторам, в том числе к глутамату и ГАМК. При этом интенсивность продукции аутоантител зависела от особенностей поведенческих реакций животных.

Целью настоящего исследования было изучение влияния антител к глутамату при интраназальном введении на развитие стресс-реакций и содержание нейромедиаторных аминокислот глутамата и ГАМК и моноаминов дофамина, норадреналина и серотонина, в гиппокампе и гипоталамусе у крыс с разной исходной поведенческой активностью.

Методика и результаты исследования. Опыты были проведены на 120 крысах-самцах линии Вистар массой 250—300 г. По суммарному показателю фоновой поведенческой активности в тесте «открытое поле» (ОП), включающему число пересеченных квадратов, стоек и обследованных объектов, крыс разделили на 2 группы: активные и пассивные. Известно, что высокая двигательная и исследовательская активность ассоциируется с высокой индивидуальной устойчивостью животных к эмоциональному стрессу. В дальнейшем активные и пассивные крысы были поделены на 4 группы: 1 — интактный контроль, 2, 3 и 4 — группы стрессированных животных, получавших интраназально физиологический раствор, антитела к глутамату и γ -глобулин интактного кролика, соответственно. Стрессорное воздействие воспроизводили, помещая крыс в жилую клетку с водой (21°C), покрытую сеткой, на 30 мин. Через 1 ч после стрессорного воздействия у всех крыс исследовали двигательную активность в «ОП» и определяли суммарный показатель двигательной активности. По окончании опыта крыс всех групп декапсировали, структуры мозга (гиппокамп и гипоталамус) выделяли на льду и замораживали в жидком азоте. Нейромедиаторы (норадреналин, дофамин, серотонин) и нейротрансмиттерные аминокислоты (глутамат и ГАМК) в структурах мозга определяли методом ВЭЖХ/ЭД. Антитела к глутамату получали в виде γ -глобулиновой фракции путем выделения из сывороток крови кроликов, гипериммунизированных конъюгатом глутамат—бичий сывороточный альбумин с последующей аффинной очисткой от антител к БСА. Гамма-глобулин интактных кроликов использовали в качестве контроля. Антитела к глутамату и γ -глобулин в дозах 250 мкг/кг веса в объеме 10 мкл вводили интраназально сразу после стрессорного воздействия.

Стрессорная нагрузка вызвала у крыс обеих групп снижение суммарного показателя двигательной активности в ОП, которое наиболее было выражено в группе поведенчески пассивных животных. Антитела к глутамату в одинаковой степени предотвращали снижение показателей двигательной активности крыс в ОП.

Определение содержания моноаминов (норадреналина, дофамина и серотонина) и нейротрансмиттерных аминокислот (глутамата и ГАМК) в гиппокампе и гипоталамусе показало, что поведенчески активные крысы отличались от пассивных более низким содержанием норадреналина (в 1,3 раза, $p < 0,01$) и более высоким уровнем дофамина (в 1,7 раза, $p < 0,058$) в гиппокампе и более высоким содержанием серотонина (в 1,4 раза, $p < 0,05$) в гипоталамусе. В то же время содержание глутамата и ГАМК в исследуемых структурах мозга у интактных активных и пассивных крыс практически не различалось.

Стрессорная нагрузка приводила к изменению содержания нейротрансмиттерных аминокислот в структурах мозга активных и пассивных крыс. При этом наиболее су-

шественные изменения уровней глутамата и ГАМК наблюдали в гиппокампе. Стресс вызвал существенное снижение содержания глутамата (на 31%) и ГАМК (на 34%) в гиппокампе и ГАМК (на 21%) в гипоталамусе у активных крыс. У поведенчески пассивных животных, наоборот, отметили достоверное увеличение уровня ГАМК (на 35%) по сравнению с группой контроля. Стрессорное воздействие не оказывало влияния на содержание глутамата в гипоталамусе активных и пассивных крыс.

Интраназальное введение антител к глутамату сразу после стресса по-разному оказывало влияния на содержание нейротрансмиттерных аминокислот в исследуемых структурах мозга. В группе поведенчески активных крыс наблюдали восстановление содержания глутамата и ГАМК в гиппокампе и ГАМК в гипоталамусе до уровня в контрольной группе. Однако у поведенчески пассивных животных антитела к глутамату, наоборот, способствовали снижению содержания ГАМК в гиппокампе и гипоталамусе ниже уровня в группах стрессированных и контрольных крыс.

В последнее время большое число работ посвящено изучению взаимодействия глутаматергической системы с катехоламин- и серотонинергическими системами. Экспериментальными исследованиями было показано, что центральные моноаминергические структуры содержат нейроны, которые параллельно с их основными нейромедиаторами выделяют глутамат. Также показано, что глутамат через ионотропные рецепторы регулирует синтез дофамина в стриатуме, а стимуляция NMDA рецепторов при местном введении NMDA в разных концентрациях вызывает дозозависимое снижение норадреналина в гиппокампе у свободно двигающихся крыс. В связи с этим представлялось интересным изучение влияния антител к глутамату на содержание моноаминов (норадреналина, дофамина и серотонина) в гиппокампе и гипоталамусе у крыс при стрессе.

Влияние стрессорной нагрузки на содержание биогенных аминов в структурах мозга разных групп крыс было неоднозначным. Стресс вызвал существенное снижение содержания норадреналина и дофамина (на 31 и 40% соответственно, $p < 0,001$) в гиппокампе у активных крыс. Изменения содержания моноаминов в гипоталамусе активных крыс при стрессорном воздействии были противоположными: содержание дофамина увеличилось на 30% ($p < 0,001$), а норадреналина не изменилось по сравнению с группой контроля. В группе пассивных крыс, подвергнутых стрессорному воздействию, отметили снижение содержания норадреналина как в гиппокампе, так и в гипоталамусе. Существенных изменений уровня дофамина в анализируемых структурах мозга пассивных крыс не наблюдали. Стрессорное воздействие не оказывало влияния на содержание серотонина в гиппокампе и гипоталамусе у поведенчески активных и пассивных крыс.

Интраназальное введение антител к глутамату в дозе 250 мкг/кг сразу после стресса предотвратило снижение содержания норадреналина и дофамина в гиппокампе активных крыс. Содержание этих медиаторов в гиппокампе активных крыс, получавших интраназально антитела к глутамату, практически не отличалось от их уровня в группах контроля. Вместе с тем, антитела к глутамату не оказывали влияния на содержание норадреналина в гиппокампе у пассивных стрессированных крыс, уровень которого практически не отличался от уровня в группе стрессированных животных, получавших интраназально физиологический раствор. Антитела к глутамату при их интраназальном введении сразу после стрессорной нагрузки, также способствовали восстановлению содержа-

ния дофамина и норадреналина в гипоталамусе у поведенчески активных и пассивных стрессированных крыс.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что стрессорное воздействие сопровождалось существенными изменениями содержания нейромедиаторов в ЦНС, нарушением баланса возбуждающих и тормозных аминокислот. Антитела к глутамату при интраназальном введении оказывали влияние главным образом на содержание нейромедиаторов в гиппокампе, способствуя восстановлению их уровней до контрольных значений. Следует отметить, что восстановление содержания нейромедиаторов в структурах мозга при введении антител к глутамату совпало с нормализацией поведенческой активности крыс в открытом поле. То есть антитела выступают как эндогенные биорегуляторы и предупреждают развитие стрессорных реакций. Результаты этих исследований подтверждают полученные нами ранее на мышах C57Bl/6 данные о возможности предупреждения развития стресс-реакций антителами к глутамату. Следовательно, антитела к глутамату оказывают стресс протективный эффект.

Аутоантитела к нейромедиаторам у больных опийной наркоманией

Ветрилэ Л.А.¹, Фомина В.Г.¹, Невидимова Т.И.², Ветлугина Т.П.², Захарова И.А.¹, Давыдова Т.В.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН, Томск, Россия

Согласно современным данным, одним из ведущих звеньев молекулярно-генетических механизмов зависимости от различных психоактивных веществ являются функциональные нарушения нейромедиаторных систем мозга. В настоящее время не вызывает сомнения наличие тесной взаимосвязи и взаимодействия нервной и иммунной системами. Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о том, что функция физиологически активных соединений, таких как нейромедиаторы, нейропептиды, гормоны может модулироваться специфическими антителами. Установлена тесная взаимосвязь между нарушением функции нейромедиаторных систем и индукцией аутоантител к ним при различных формах патологии ЦНС (Евсеев В.А., 2007). Ранее показана возможность образования аутоантител к нейромедиаторам при различных патологиях ЦНС в клинике и эксперименте (Евсеев В.А., 2007), в том числе и при опийной наркомании (Гамалея Н.Б. и др., 1994; Мягкова М.А., 2008). Однако до настоящего времени участие иммунных механизмов в патогенезе наркотической зависимости остается недостаточно изученным.

Целью настоящей работы было изучение особенностей образования аутоантител к нейромедиаторам серотонину и катехоламинам у больных с наркоманией в динамике от давности и периода заболевания.

Методика и результаты исследования. Работа проведена на базе отделения адиктивных состояний и лабораторий клинической психонейроиммунологии Томского НИИПЗ СО РАМН. Исследована сыворотка крови 49 больных опийной наркоманией в возрасте 15–20 лет и с длительностью употребления наркотиков в течение 2–3 лет. Также была исследована сыворотка 27 доноров соответствующего возраста — группа контроля. В сыворотке крови определяли аутоантитела (аутоантитела) к серотонину, дофамину и норадреналину. Аутоантитела определяли методом твердофазного иммуноферментного

анализа на полистироловых планшетах, активированных тест-антигеном. В качестве тест-антигена использовали конъюгат нейромедиатора с бычьим сывороточным альбумином, синтезированный по ранее описанной методике. В качестве вторичных антител использовали антитела к иммуноглобулинам человека, меченные пероксидазой хрена (МЕДГАМАЛ). Аутоантитела к исследуемым нейромедиаторам в невысоком титре выявлялись практически у всех здоровых лиц. Титр аутоантитела к серотонину, дофамину и норадреналину у лиц контрольной группы составил в среднем $1:518 \pm 64,2$, $1:407 \pm 47,6$ и $1:435 \pm 30,9$ соответственно. У больных наркоманией аутоантитела к нейромедиаторам выявлялись в более высоких титрах по сравнению с группой контроля. Так, титр аутоантитела к серотонину в среднем по группе составил $1:1160 \pm 110,0$, к дофамину $1:736 \pm 54,2$ и к норадреналину $1:1000 \pm 90$. Однако по титру выявляемых аутоантитела группа больных разделилась на 2 подгруппы: с высокими ($1:1200$ — $1:2500$) и низкими (на уровне контроля) титрами. Высокие титры аутоантитела к серотонину и норадреналину были выявлены у половины больных (51,0 и 52,1% соответственно). Аутоантитела к дофамину в высоких титрах обнаружили лишь у 28,6%. Частота выявления и уровень аутоантитела к нейромедиаторам зависит от периода заболевания: ремиссии, подострой и острой абстиненции. Период ремиссии характеризуется высокими титрами аутоантитела к серотонину и норадреналину у большинства больных (61,5% и 69,2% соответственно). Такая же тенденция характерна и для периода подострой абстиненции. Высокие титры аутоантитела к серотонину и норадреналину ($1:1600$ и $1:1500$ соответственно) обнаружили у 75,0 и 62,5% больных соответственно. Период острой абстиненции характеризуется существенным снижением (до контрольного уровня) титра аутоантитела к серотонину и норадреналину у большинства больных (78,9 и 66,7% соответственно). В то же время существенных изменений частоты выявления и титра аутоантитела к дофамину в зависимости от периода заболевания не обнаружили. Таким образом, полученные предварительные данные показывают, что уровень аутоантител к серотонину и норадреналину является наиболее информативным и снижение их титра предшествует развитию периода абстиненции. Можно предположить, что аутоантитела к серотонину и норадреналину могут служить биологическими маркерами течения заболеваний.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00673

Способность лимфоцитов периферической крови связывать катехоламины *in vitro* у здоровых и больных героиновой наркоманией в динамике лечения

Гамалея Н.Б., Берзина А.Г., Гусарова Ю.Н.

ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» МЗиСР России, Москва

В патогенезе болезней зависимости, таких как алкоголизм и наркомания, стержневую роль играют изменения в катехоламинергической и, прежде всего, дофаминергической системе, в мозговых структурах, ответственных за осуществление «положительного подкрепления», или «наград». Частью катехоламинергической системы являются рецепторы к дофамину и норадреналину как на нейронах в ЦНС, так и на периферии, в том числе, на лимфоцитах крови.

Целью настоящего исследования было изучение связывания дофамина и норадреналина *in vitro* лимфоцитами периферической крови больных героиновой наркоманией

в динамике лечения в сравнении с лимфоцитами здоровых. Для оценки связывания катехоламинов был применен разработанный авторами оригинальный метод, основанный на выявлении в иммуноферментном анализе (ИФА) связывания дофамина и норадреналина, меченных пероксидазой хрена, с мембранами лимфоцитов, сорбированных на твердой фазе (полистирольном планшете).

Материал и методы. Исследованы мембраны лимфоцитов, полученных от 15 больных героиновой наркоманией при поступлении в клинику Центра в абстинентном синдроме и на 14-й день лечения, и от подобранных по полу и возрасту 15 здоровых добровольцев. За время исследования больным проводилось стандартное лечение.

Результаты. Больные при поступлении характеризовались достоверным снижением уровня связывания дофамина лимфоцитами в сравнении со здоровыми лицами (оптическая плотность в ИФА составляла $0,43 \pm 0,11$ и $0,62 \pm 0,09$ соответственно, $p < 0,001$). На 14-й день терапии связывание дофамина достоверно повышалось до $0,54 \pm 0,09$ ($p < 0,001$), хотя и не достигало нормального уровня ($p < 0,05$). Сходная картина наблюдалась и в отношении связывания норадреналина. У больных при поступлении уровень связывания норадреналина лимфоцитами был достоверно ниже, чем у здоровых (оптическая плотность в ИФА составляла соответственно $0,28 \pm 0,09$ и $0,43 \pm 0,07$, $p < 0,001$). На 14-й день лечения этот показатель достоверно повысился и составил $0,36 \pm 0,09$ ($p < 0,001$), не достигая, однако, нормы ($p < 0,05$). Для доказательства специфичности разработанной методики оценки связывания катехоламинов с лимфоцитами были проведены эксперименты с конкурентным ингибированием связывания пероксидазных конъюгатов катехоламинов (ДА-ПХ и НА-ПХ) с мембранами лимфоцитов при добавлении антагонистов соответствующих рецепторов, выступающих в роли ингибиторов связывания. У здоровых связывание дофамина с лимфоцитами специфически угнеталось сульпиридом — антагонистом дофаминовых рецепторов с образованием двух пиков торможения при концентрации сульпирида 10^{-6} и 10^{-9} М. Связывание лимфоцитов здоровых с норадреналином угнеталось антагонистом бета-адренорецепторов пропранололом с образованием одного пика торможения при концентрации пропранолола 10^{-9} М. У больных героиновой наркоманией при поступлении отсутствовали четко выраженные пики торможения связывания дофамина и норадреналина при всех исследованных концентрациях сульпирида и пропранолола. Проведенное в течение 14 дней лечение приводило к появлению лишь небольшого пика торможения связывания дофамина с лимфоцитами при концентрации сульпирида 10^{-6} М. Восстановления связывающей катехоламины активности лимфоцитов в области низких концентраций антагонистов (10^{-9} М) не наблюдалось.

Выводы. Проведенное в стационаре лечение больных героиновой наркоманией в течение 14 дней еще не приводило к полной нормализации дофамин- и норадреналин-связывающей способности лимфоцитов как по количественным (величина оптической плотности в ИФА), так и по качественным характеристикам (пики угнетения связывания антагонистами дофаминовых и бета-адренергических рецепторов сульпиридом и пропранололом соответственно). Отмечено лишь восстановление низкоаффинных участков связывания дофамина на мембранах лимфоцитов периферической крови. Для восстановления также и высокоаффинного связывания катехоламинов требуется, вероятно, более длительное лечение. Разработанный метод оценки связывания катехоламинов лимфоцитами периферической

крови позволяет объективно оценить тяжесть состояния больных и эффективность проводимой терапии.

Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов у животных при различных психоэмоциональных состояниях

Геворгян М.М.

ФГБУ «НИИ физиологии СО РАМН», Новосибирск, Россия

В настоящее время особое внимание привлекает вопрос о влиянии психоэмоциональных факторов и функционального состояния мозга на иммунологическую реактивность, в значительной мере определяющей содержанием различных субпопуляций лимфоцитов в иммунокомпетентных органах. В связи с этим задачей исследования являлась оценка субпопуляционного состава лимфоцитов при экспериментальном моделировании агрессивного, субмиссивного, депрессивно-подобного и тревожного состояний.

Материалы и методы. Опыты проведены на мышах линий СВА/Lac, C57Bl/6J, ASC/Icg и крысах Вистар. Формирование агрессивного и субмиссивного или депрессивно-подобного поведения осуществлялось методом дистантного сенсорного контакта. Крысы были разделены на высоко- и низкотревожных по анализу поведения в приподнятом крестообразном лабиринте. Анализ субпопуляций CD4⁺, CD8⁺ CD16/32⁺ лимфоцитов проводили на проточном цитофлуориметре «FACS Calibur» («Becton Dickinson», USA) у интактных и иммунизированных эритроцитами барана (5x10⁸) животных.

Результаты исследований. Установлено, что величина иммунного ответа может изменяться в зависимости от уровня тревожности. На крысах линии Вистар показано, что у животных, демонстрирующих в приподнятом крестообразном лабиринте высокотревожное поведение, иммунный ответ был значительно ниже, чем у низкотревожных. У мышей C57Bl/6J с тревожно-депрессивноподобным поведением, выработанным в результате длительного социального стресса, отмечалось уменьшение в периферической крови процентного содержания CD4⁺ Т-клеток и, как следствие, снижение индекса иммунореактивности (соотношение CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток). Как известно, линии мышей СВА и C57Bl/6J различаются по уровням базовой тревожности. Нами установлено достоверное снижение CD4⁺ и CD8⁺ субпопуляций лимфоцитов в селезенке и в периферической крови у высокотревожной линии мышей C57Bl/6J как интактных, так и иммунизированных, по сравнению с линией СВА. Вместе с тем, у интактных и иммунизированных мышей линии C57Bl/6J выше процентное содержание CD16/32⁺ Т-клеток естественных киллеров в селезенке и в периферической крови, чем у мышей СВА, которые отличаются низкой базовой тревожностью по сравнению с линией мышей C57Bl/6J и более предрасположены к развитию опухолей. В другой модели при наследственно-детерминированном депрессивноподобном поведении (интактные мыши линии ACS) отмечалось изменение в периферической крови процентного содержания CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. На фоне повышения числа CD8⁺ Т-супрессорных/цитотоксических клеток у них уменьшалось процентное содержание CD4⁺Т-хелперов, что приводило к снижению индекса иммунореактивности по сравнению с мышами родительской линии СВА без признаков депрессии.

Заключение. Таким образом, социальный стресс или генетически обусловленные нарушения, которые приводят к развитию различных типов поведения или состояний, близким аффективным расстройствам у человека, характеризуются своими особенностями перераспреде-

ния основных субпопуляций Т-клеток, что, в свою очередь, может оказывать влияние на иммунную реактивность при попадании в организм антигена.

Динамика температуры кисти при локальном холодом тесте и характеристики судомоторной активности при высокой чувствительности к холоду

Герасимова Л.И., Ульнирова Н.Ю., Федосова А.А.

ФГБОУ ВПО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия

Исследовали состояние надсегментарных вегетативных центров у лиц с повышенной чувствительностью к холоду в виде усиленной холод-индуцированной вазоконстрикции. Обследовано 60 чел. из числа студентов ПетрГУ возраста 17—20 лет (24 м, 36 ж). Состояние вегетативной нервной системы оценивали с помощью анализа вызванного кожного вегетативного потенциала (ВКВП) ладоней в ответ на зрительную стимуляцию. Температура кожи (t_k) обеих рук измерена в области кисти, на середине предплечья и в области локтя с интервалами в 3 мин после проведения локального холодом теста с погружением одной руки в холодную воду ($t=3-6^{\circ}\text{C}$). Усиленная холод-индуцированная вазоконстрикция выявлена у 16 чел. на основании анамнестического описания начальных признаков феномена Рейно (побеление пальцев рук, сопровождаемое болью и/или отеком, наблюдаемое на холоде). При проведении локального холодом теста в исследованной группе наблюдалось снижение t_k только в пределах кисти охлаждаемой конечности. Различий в динамике t_k в зависимости от чувствительности к холоду не выявлено. Более глубокое снижение t_k , в среднем на 23% от исходных значений, наблюдалось у женщин. У мужчин снижение t_k кисти после охлаждения составило в среднем 16% ($p<0,05$). К концу 15-минутного периода наблюдения t_k у женщин была более низкой, чем у мужчин, что отражает известную склонность к развитию вазоспастических реакций на холоде у лиц женского пола. При исследовании судомоторной активности отмечены особенности вегетативной регуляции в зависимости от чувствительности к холоду. У лиц без усиленной холод-индуцированной вазоконстрикции параметры ВКВП, характеризующие активность трофотропных надсегментарных центров (влияние парасимпатической нервной системы), были следующими: латентность (L, с) $1,55\pm 0,33$ амплитуда первой фазы (A1, мВ) — $1,20\pm 1,35$, длительность первой фазы (S1, с) — $1,34\pm 0,64$. Параметры второй фазы ВКВП, характеризующей активность надсегментарных эрготропных центров (симпатическая нервная система), были следующими: амплитуда (A2, мВ) — $2,70\pm 2,84$, длительность восходящей части (S2A, с) — $2,05\pm 1,31$, длительность нисходящей части (S2B, с) — $2,28\pm 0,96$. У лиц с усиленной холод-индуцированной вазоконстрикцией отмечено снижение L ВКВП ($p<0,05$), уменьшение S1 ВКВП ($p<0,01$), и S2A ВКВП ($p<0,05$), при проведении повторной стимуляции отмечена тенденция к отсутствию габитуации ВКВП. Таким образом, у лиц с повышенной чувствительностью к холоду уменьшена активность трофотрофных центров. Оценка активности эрготропных механизмов не однозначна: снижение латентности ответов соответствует симпатикотонии, в то время как уменьшение параметров второй фазы ВКВП — сниженной активности эрготропных механизмов. Вместе с тем, полученные данные, свидетельствующие о снижении нейрогенной активности, не противоречат одной из концепций развития феномена

Рейно как постденервационной гиперчувствительности сосудов к циркулирующим катехоламинам.

Исследование выполнено в рамках Программы стратегического развития ПетрГУ (2012–2016).

Филогенетические и онтогенетические аспекты развития и взаимодействия нервной и иммунной систем, определяющие патогенез заболеваний ЦНС

Гнедкова И.А., Гнедкова М.А.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины», Киев, Украина

Для выяснения патогенеза многих заболеваний ЦНС важно понять и оценить «логику» эволюционного процесса, которая привела к развитию клеточных элементов нервной и иммунной систем. Так, на основании обширного фактического материала А.А. Заварзин сделал вывод, что нервная система развивалась в связи с развитием мышечной системы и двигательной функции, тогда как иммунная система развивалась в связи с развитием функции пищеварения и пищеварительной системы. Отмечают определенную аналогию в структуре нервной и иммунной систем: лимфоциты и антитела образуют «регуляторную сеть», сопоставимую по сложности с сетью нейронов. Нейроны в раннем онтогенезе и лимфоциты в процессе индивидуального развития и проявления функциональной активности имеют клональное происхождение. Обе системы — нервная и иммунная — обладают памятью, способны реагировать на нестандартные ситуации; в обеих системах представлены белки суперсемейства иммуноглобулинов SFIg, происходящие из примитивных молекул клеточной адгезии. Белки головного мозга, и иммунной системы, обладающие лектиновыми свойствами, участвуют как в реакциях иммунной системы, осуществляющих примитивные углевод-лектиновые взаимодействия, так и в развитии, росте и формировании сигнальной функции белков ЦНС. В частности, галектины — галактозоспецифические лектины составляют консервативную в процессе эволюции систему, контролирующую однородность клеточных популяций. Установлено участие галектинов в синаптогенезе и росте аксонов в головном мозге. Общность углеводных эпитопов, включенных в структуру гликопротеинов и гликолипидов головного мозга и иммунной системы, по-видимому, определяет общность и аналогию некоторых функций. Лектиноподобные свойства были установлены у общего белка миелина (ОБМ) к галактозным и галактозаминовым остаткам. При миелинизации происходит накопление ганглиозидов GM1 и GM4 и резкое уменьшение полисиалоганглиозидов. Антитела к ганглиозидам нарушают нормальную дифференцировку клеток головного мозга. На ранних этапах филогенетического развития изолированность мозга поддерживается за счет фагоцитарной активности глиальных клеток (например, у моллюсков), затем формируется смешанный гликально-эндотелиальный барьер (ГЭБ) у различных примитивных рыб и только у высших млекопитающих эндотелиальные клетки плотно замыкаются между собой, осуществляя основную функцию ГЭБ. В фило- и эмбриогенезе развитие глиального барьера головного мозга предшествует развитию эндотелиального. Эволюционная логика формирования иммунной системы направлена от реакций аллогенного ингибирования до развития специализированных клеток, способных синтезировать антитела, продуцировать лимфокины и участвовать в РТПХ. Раннее отделение ЦНС в эмбриогенезе, по-видимому, определя-

ет особенности формирования «местных» (внутри мозговых) эффекторных реакций, соответствующих этапу неразделенного гемопоэза преимущественно гранулоцитарно-макрофагального ростка. Выполнение сложной интеграционно-аналитической функции головным мозгом предполагает защиту нейронов ЦНС, заключающейся в развитии толерантности к чужеродной антигенной информации. Проявление иммунологических функций у клеток головного мозга (глиальная, макрофагальная реакции, лимфоцитарная инфильтрация) связаны с различными патологическими процессами, при этом, по-видимому, происходит переход функционирования ГЭБ на предшествующие этапы эволюционного развития — эндотелиально-глиальный или глиальный, проявляющийся развитием различных видов гиперпластических реакций глии и нарушением функции нейрональных систем.

Взаимосвязь интенсивности свободнорадикального окисления и гормонов стресса у детей при острых бактериальных и вирусных инфекциях

Говорова Л.В., Алексеева Л.А., Бессонова Н.В., Гончарова Е.А., Скрипченко Н.В.

ФГБУ НИИ детских инфекций ФМБА, С.-Петербург, Россия

Формирование адаптационной реакции при генерализованном воспалении, инициированном инфекционным агентом, остается одной из актуальных проблем. Известно, что свободнорадикальное окисление (СРО) является типичным метаболическим процессом, обеспечивающим в норме обновление липидов в клеточных мембранах. Интенсификация СРО (реакция «дыхательного взрыва») в ответ на вторжение инфекционного агента обеспечивает первичную защиту клетки от влияния чужеродных частиц.

Целью нашей работы было изучение взаимосвязи реакций СРО, регулирующих их «гормонов стресса» (кортизола и соматотропного гормона (СТГ) и интенсивности воспаления (по уровню С-реактивного белка (СРБ)). Были обследованы 16 детей (от 1 до 13 лет) с бактериальными гнойными менингитами (БГМ) и 10 — с вирусными энцефалитами (ВЭ). Исследования проводили в остром периоде (при поступлении), на 2–3 сутки в стационаре и в периоде ранней реконвалесценции (7–10 сутки заболевания). Контрольную группу составили 15 практически здоровых детей того же возраста. Концентрации кортизола и соматотропного гормона в плазме крови исследовали методом иммуноферментного анализа. Уровень С-реактивного белка в плазме крови детей измеряли иммунотурбидиметрическим методом. Об интенсивности СРО судили по активности хемилюминесценции (ХЛ) плазмы крови, в условиях индукции её гидроперекисью. В остром периоде заболевания интегральная характеристика активности СРО — суммарная ХЛ за минуту (Σ ХЛ) возрастала в 3–3,5 раза. В периоде реконвалесценции при БГМ уровень Σ ХЛ оставался повышенным в 3,5 раза, а при ВЭ возрастал в 7 раз по сравнению с нормой. Выявлено достоверное повышение уровня СТГ (в 10 и в 11 раз) и кортизола (в 5 и в 2 раза) в остром периоде при БГМ и ВЭ соответственно. Аналогичной была динамика уровня СРБ — рост в 8 раз при БГМ и в 2 раза при ВЭ в остром периоде. В дальнейшем наблюдали снижение уровней кортизола и СРБ, достигавших к периоду реконвалесценции нормальных значений. Уровень СТГ при БГМ также резко снижался, а при ВЭ на 2–3 сутки болезни оставался повышенным, затем практически нормализовался. Проведен-

ный корреляционный анализ выявил достоверную корреляцию СРБ и СТГ ($r=0,68$) в остром периоде ВЭ, но СРБ и кортизола ($r=0,5$) при БГМ. Корреляция Σ ХЛ с СТГ при БГМ была равна 0,65, а при ВЭ — 0,7. На 2—3 сутки корреляция уровней кортизола и СТГ составила 0,56, при БГМ и 0,37 при ВЭ. При ВЭ отмечена достоверная корреляция Σ ХЛ и СТГ (0,9). В периоде реконвалесценции при БГМ отмечена положительная корреляция концентраций СРБ и СТГ (0,53), величины Σ ХЛ и уровня кортизола (0,74). При ВЭ отмечена положительная корреляция уровней СРБ и СТГ (0,9), СРБ и кортизола (0,57). Отмечены отрицательные корреляции уровней Σ ХЛ с СРБ (-0,74), СТГ (-0,4) и с кортизолом (-0,98). При ВЭ в остром периоде и в периоде реконвалесценции прослеживаются больше коррелятивных связей изучавшихся показателей (то есть, большее сопряжение защитных реакций), чем при БГМ. В то же время при БГМ у детей выявлено увеличение коррелятивных связей СРО с гормонами и СРБ на 2—3 сутки болезни. Таким образом, показана тесная взаимосвязь активации СРО и гормональной регуляции воспалительного процесса при адаптации к инфекции.

Нейроиммунные процессы при развитии гипертонии

Грудень М.А., Елистратова Е.И., Шерстнев В.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

Эссенциальной гипертонией страдает более одной трети взрослого населения земного шара. Наиболее частые осложнения гипертонической болезни проявляются в форме серьезных цереброваскулярных расстройств — гипертонического криза и ишемического инсульта. Актуальным направлением современной медицины и биологии является изучение нейроиммунных механизмов формирования указанных заболеваний. Особый интерес представляет поиск и изучение ранних молекулярных маркеров, отражающих особенности молекулярных механизмов развития гипертонии.

Целью работы был сравнительный анализ взаимосвязей сывороточного содержания факторов развития и гибели клеток нервной, иммунной и сосудистой систем — белка HLDF, его пептидных фрагментов HLDF24, HLDF25, аутоантител I и II порядка к ним с клинической симптоматикой, а также оценка возможности использования данных факторов в качестве диагностических и прогностических маркеров гипертонической болезни. Проведено комплексное обследование пациентов с гипертонической болезнью ($n=43$) в сравнении со здоровыми пациентами сопоставимого возраста ($n=26$). Методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованных оригинальных иммуноферментных тест-систем проводили определение в крови белка, HLDF, идио- и антиидиотипических антител к HLDF в сыворотке крови пациентов.

В сравнении с контрольной группой у обследованных больных обнаружено достоверно более низкое содержание белка HLDF, его пептидных фрагментов и антител к нему. Выявлена взаимосвязь между концентрацией HLDF и артериальным давлением, длительностью течения гипертонической болезни, степенью стеноза магистральных артерий головы, выраженностью ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности.

Полученные результаты указывают на вовлеченность изучаемых факторов в механизмы развития нарушений

кровообращения и формировании гипертонической болезни и свидетельствуют о возможности использования системы белка и его пептидных HLDF, а также антител к ним в качестве биомаркеров данной патологии.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00709

Новые аспекты иммунопротекции против токсичных форм белков — биомаркеров нейродегенеративных заболеваний

Грудень М.А.¹, Sewell R.D.E.², Morozova-Roche L.A.³

¹ *ФГБУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия*

² *Welsh School of Pharmacy, Cardiff University, Cardiff, UK*

³ *Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Umea University, Umea, SE-90187, Sweden*

В настоящее время проблемы профилактики развития нейродегенеративных процессов приобретают особый интерес в связи с ростом числа случаев нейродегенеративных заболеваний — болезни Альцгеймера (БА), болезни Паркинсона (БП). Известно, что нарушение конформации белков с депонированием в тканях белковых агрегатов является одной из основных причин их развития. В основе развития нейропатологии при БА и БП лежат молекулярные механизмы включающие формирование токсичных амилоидогенных форм $A\beta_{25-35}$ пептида, α -синуклеина, дисбаланса нейромедиаторных систем, нарушений нейротрофической регуляции, воспаление и аутоиммунные реакции по отношению активных мозговых факторов. Показано, что промежуточные формы белковых агрегатов (олигомеры) индуцируют гибель нервных и глиальных клеток по типу апоптоза. В связи с этим, актуально изучение механизмов иммунологической защиты мозга от токсических олигомерных белковых форм. Использованы методы АСМ, мечение специфическими красителями для характеристики амилоидогенных белков и их агрегатов. Уровень антител в сыворотке крови пациентов с АД и ПД анализировали ELISA и иммуноблоттингом. Проведены исследования динамики продукции аутоантител к морфологически охарактеризованным олигомерным, протофибрилярным и фибриллярным формам белков и пептидов — специфических маркеров АД и ПД ($A\beta_{25-35}$ пептид, α -синуклеин) и не связанных с заболеваниями белков (лизоцим, инсулин). Выявлены специфические взаимосвязи между различными конформационными формами биомолекул, продукцией аутоантител к ним и стадиями нейродегенерации. Результаты позволяют определить роль иммунной системы в защите клеток мозга от повреждения и апоптоза при прогрессирующей нейродегенерации и использовать их при разработке новых подходов нейропротективной защиты, а также лечения заболеваний, связанных с нарушением сворачивания белков.

Значение антител к ацетилхолиновым рецепторам в оценке эффективности лечения больных миастенией

Дедаев С.И.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН Москва, Россия

Миастения является классическим аутоиммунным заболеванием, клинические проявления которого в виде мышечной слабости и патологически повышенной утомляемости обусловлены выработкой аутоантител к различным структурам нервно-мышечного синапса и самой мышцы. Согласно современным представлениям, ведущее значения в патогенезе миастении имеют антитела к

ацетилхолиновым рецепторам (АХР) постсинаптической мембраны. Повышение концентрации антител к АХР наблюдается у 80—85% всех больных с миастенией, но не коррелирует с тяжестью и формой заболевания, что ограничивает информационную ценность этого показателя до диагностического критерия.

Целью нашей работы было изучение взаимосвязи изменения концентрации антител к АХР и выраженности клинического эффекта при применении патогенетических методов лечения, таких, как назначение глюкокортикоидных препаратов и хирургическое удаление вилочковой железы — тимэктомиа или тимомтимэктомиа при наличии тимомы. В ходе работы было обследовано 62 пациента с генерализованной формой миастенией. У 38 больных проводилось лечение глюкокортикоидными препаратами, у 23 больных — хирургическое удаление тимуса. До начала лечения и на сроках 2—4 мес. после назначения глюкокортикоидов и 9—12 мес. после оперативного лечения у всех больных проводилось комплексное клиническое и иммунологическое обследование. Клинический статус пациентов определялся при помощи шкалы оценки мышечной силы MRC и шкалы количественной оценки тяжести клинических проявлений миастении QMGs. Тяжесть заболевания определялась согласно международной клинической классификации тяжести миастении MGFA. Антитела к АХР определялись радиоиммунологическим методом. При анализе полученных данных было выявлено, что клиническое улучшение в 80% случаев совпадало с достоверным уменьшением концентрации антител к АХР ($p < 0,05$). Выраженность уменьшения содержания антител широко варьировала, хотя стоит отметить, что во всех случаях выраженного улучшения концентрация уменьшалась значительно (более чем на 40%). Отсутствие положительного эффекта от лечения ассоциировалось со стабильностью или повышением концентрации антител к АХР при повторном измерении. При наблюдении в течение 10—12 мес. за пациентами в группе с клиническим улучшением, выявлено, что в случаях сочетания положительной клинической динамики с отсутствием снижения концентрации антител к АХР вероятность обострения миастении значительно выше ($p < 0,05$). Полученные в ходе работы данные позволяют показать целесообразность использования концентрации антител к АХР при лечении как важного критерия объективизации подавления активности механизмов иммунной агрессии, лежащих в основе развития миастении, клиническим эквивалентом чего является уменьшение мышечной слабости и утомляемости. Также несомненный интерес в клинической практике представляет использование этого иммунологического показателя в оценке надежности достигнутой ремиссии миастении с выявлением группы риска, имеющей высокую вероятность обострения болезни.

Нарушения психоэмоциональных реакций животных в условиях экспериментальной черепно-мозговой травмы и способы их коррекции

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

ФГБУ «Научно-исследовательский ИНСТИТУТ экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) представляет собой значительную проблему здравоохранения, является одной из ведущих причин смертности и недееспособности людей в современном мире. Общие последствия ЧМТ вклю-

чают в себя изменения личности, когнитивные проблемы, нарушения двигательных функций.

Модель «падающего груза» является одной из наиболее часто используемых моделей ЧМТ у грызунов. При исследовании когнитивных способностей и пространственной памяти травмированных крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса» показано, что на 7-е сутки после нанесения ЧМТ у животных существенно снижена пространственная память. Установлено снижение относительного времени, проведенного животным в секторе интереса, а время, требуемое для достижения сектора интереса, значительно увеличено по сравнению с этим показателем у контрольных животных. Курсовое введение Дерината — лекарственного препарата нуклеотидной природы (Техномедсервис, Москва) ежедневно, в течение 4-х дней, приводило к восстановлению этих показателей до уровня у контрольных животных. При анализе изменения эмоционального статуса крыс в тесте «Открытое поле» установлено, что количество посещений регионов открытого поля, таких как периферия, 2/3 и центр поля, достоверно снижено у травмированных животных, начиная с 2-х часов после нанесения ЧМТ по сравнению с теми же показателями у контрольных животных. При курсовом введении Дерината на 7-й и 14-й день после нанесения травмы выявлено восстанавливающее действие препарата на эти показатели. Тем не менее, у травмированных животных, не получавших Деринат, на 7-е сутки отмечалось большее количество посещений регионов, чем на 14-е сутки.

При определении длины общего пробега животных за исследуемый период (5 минут) установлено, что через 2 часа после получения травмы и далее на 1-е, 7-е и 14-е сутки этот показатель снижен у травмированных животных, по сравнению с тем же показателем у контрольных. Введение Дерината в течение 4 дней на 7-е и 14-е сутки после нанесения травмы восстанавливает этот показатель до уровня у контрольных животных.

Таким образом, у животных, перенесших ЧМТ, снижаются показатели исследовательской активности и повышаются показатели, демонстрирующие развитие тревожности. Курсовое введение Дерината позволяет предотвратить развитие этих нарушений.

Нейроиммуноэндокринная дисрегуляция в патогенезе цереброваскулярных заболеваний

Жирнова И.Г., Комелькова Л.В., Максимова М.Ю.

ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Москва, Россия

Концепцию единства взаимодействия нервной, иммунной и эндокринной систем в условиях нормы и патологии следует считать одним из важнейших научных достижений второй половины XX века.

Цель работы — анализ изменений иммунитета в двух группах лиц: I составили 31 больной неосложненной формой АГ; II — 41 пациент, обследованные в динамике острого периода ишемического инсульта (ИИ): в 1—3, 7 и 21 дни от его начала.

Методы: определяли фенотипический состав лимфоцитов крови с помощью маркеров основных субпопуляций: CD19, CD3, CD4, CD8, CD16,56, и вычислением регуляторного индекса — CD4/CD8 (РИ), а также экспрессию маркеров активации лимфоцитов (HLA-DR, CD25, CD95, CD45RA и CD45RO). Использовали метод цитометрии на проточном цитофлюориметре Beckman Coulter Epics XL. Гуморальный иммунитет оценивали по содержанию IgG, IgA, IgM в сыворотке крови и фракций иммунных комплексов (ИК). В группе больных АГ отмечали снижение процентного

или абсолютного количества нормальных киллеров — НК клетки: (у 52 и 20% соответственно), а также разнонаправленные изменения содержания CD8+ клеток и величины РИ. Кроме того, выявлено повышение экспрессии маркеров активации и уровня IgM. Совокупность обнаруженных изменений у больных АГ может быть результатом хронической активации нейроиммуноэндокринной стресс-реализующей системы. Роль эмоциональных стрессоров при гипертонической болезни признается давно (Г.Ф. Ланг, 1950). К настоящему времени доказана необходимость совместного участия стимуляции эмоциогенных центров и активации секреции надпочечниками катехоламинов и глюкокортикоидов для развития АГ. При этом по данным М.Г. Пшенниковой, стимуляция эмоциогенных центров связывается с развитием транзитной фазы АГ, включение же гормонов надпочечников связано с усилением тонического влияния на сосудосуживающие центры продолговатого мозга и переходом в стадию устойчивой АГ. В 1—3 сутки ИИ изменения фенотипического состава лимфоцитов носили комплексный характер; существенно выше среди больных второй группы было количество лиц с дефицитом CD3+, CD4+ и CD8+ клеток. Изменения гуморального иммунитета в группе больных ИИ в острейшем периоде были представлены большей степенью повышения IgM; при этом, однако, у 33% больных уровень IgG был снижен (от 4,28 до 8,48 г/л), что можно расценивать как проявление иммунодефицитного состояния. Таким образом, общая картина изменений иммунного статуса у больных в острейшем периоде ИИ была представлена сочетанием признаков дисрегуляции и иммунодефицита, что, по-видимому, может предрасполагать к развитию в постинсультном периоде осложнений, связанных, как с иммунной недостаточностью, так и с аутоиммунными проявлениями. К концу острого периода ИИ (21 сутки) у части больных отмечена частичная редукция изменений, характерных для острейшей стадии. Вместе с тем, при позитивном характере динамики иммунного статуса, дефицит субпопуляций CD4+, CD8+ клеток с отклонениями от нормы значений РИ, к 21 дню от начала инсульта сохранялся у 70% больных. Таким образом, на сегодняшний день является неоспоримым факт, что тяжелые и длительные стресс-реакции, которые неизбежно сопутствуют развитию как АГ, так и ИИ, сопряжены с возможностью угнетения иммунной системы вплоть до развития иммунодефицитных состояний. Предполагается также, что длительные стрессорные воздействия могут приводить к «поломкам» и дисрегуляции различных звеньев нейроиммуноэндокринной системы, способствуя развитию и/или обострению ранее текущих иммунопатологических процессов.

Влияние антипсихотика солиана (амисульприда) на иммунную функцию у животных различного стереотипа поведения

Жукова Е.Н.

ФГБУ «НИИ физиологии СО РАМН», Новосибирск, Россия

Антипсихотики широко используются для лечения различных психопатологий, сопровождающихся, как известно, нарушением иммунной функции. Используя экспериментальные модели формирования психоэмоционального напряжения у животных, представляло интерес изучить влияние нейрелептиков на иммунную функцию мышшей в зависимости от сформированного у них стереотипа поведения.

Методика. Формирование психоэмоционального состояния, связанного с проявлением агрессивного и субмиссивного поведения достигалось в модели парного дистантного контакта. В качестве атипичного антипсихотика применялся солиан (амисульприд), действующий через

D2/D3 рецепторы, который вводился как мышам, не подвергавшимся социальному стрессу, так и со сформированным стереотипом поведения. Для определения иммунного реагирования мышшей иммунизировали Т-зависимым антигеном эритроцитами барана (ЭБ, 5×10^8) через 1 ч после последнего введения солиана. Иммунный ответ тестировали в селезенке по числу IgM-бляшкообразующих клеток (БОК) и розеткообразующих клеток (РОК) на пике иммунного ответа (4-й день после иммунизации). Статистическую оценку различий между средними значениями показателей проводили путем парного сравнения по t-критерию Стьюдента и с помощью дисперсионного анализа ANOVA с использованием статистического пакета Statistica Advanced for Windows ver.5.0.

Результаты. Эксперименты показали, что острое в/б введение препарата в дозе 1,25 мг/кг мышам линии СВА, не подвергавшимся социальному стрессу, не оказало влияния на иммунный ответ. В то же время более высокая доза 5,0 мг/кг, проявляющаяся визуально в седации поведения мышшей, приводила к снижению всех исследованных иммунных показателей. Для хронического введения была выбрана доза солиана с эффектом угнетения иммунной функции — 5,0 мг/кг. При тестировании иммунного ответа через 10 дней применения препарата обнаружили достоверное снижение абсолютного количества IgM-АОК и более чем в 2 раза уменьшение РОК. Анализ влияния солиана на иммунную функцию в зависимости от стереотипа поведения животных показал, что препарат при 10-дневном хроническом введении вызывает угнетение иммунного ответа как у агрессивных, так и у субмиссивных мышшей, но у агрессивных падение иммунных показателей более выражено.

Приближенное к клиническим условиям введение препарата per os мышам линии С57В1/6J в течение 10 дней в дозе 5,0 мг/кг оказало подобное в/б введению подавляющее влияние на иммунную функцию у контрольных животных без опыта побед и поражений по числу РОК и еще более выраженное угнетение у агрессивных мышшей

Заключение. Независимо от способа введения солиана мышам препарат подавляет иммунную функцию,

сформированным агрессивным стереотипом поведения. Полученные данные представляют особый интерес для клиницистов при лечении психопатологий, сопровождающихся иммунологической дисфункцией.

Работа выполнена в рамках договора о научно-практическом сотрудничестве ФГБУ «НИИ физиологии» СО РАМН (лаб. механизмов нейрохимической модуляции, зав. лаб. д.б.н. проф. Идова Г.В.) и ФГБУ «НИИ психического здоровья» СО РАМН (лаб. клинической психонейроиммунологии, зав. лаб. д.б.н. проф. Ветлугина Т.П.).

Антистрессорное действие антител к глутамату на фагоцитоз перитонеальных макрофагов и нейтрофилов периферической крови у мышшей С57В1/6

Захарова И.А., Фомина В.Г., Ветрилэ Л.А.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Многочисленными исследованиями показано, что стресс приводит к нарушению иммунной защиты организма. В этом процессе задействована активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) оси, где важную роль играет возбуждающий нейромедиатор глутамат (ГЛУ). Известно, что глутаматергические сигнальные механизмы имеются не только в нервных клетках, но и в

клетках иммунной системы и участвуют в сигнальном взаимодействии этих систем. Поэтому ГЛУ можно рассматривать как иммуно- и нейромедиатор.

Ранее было показано, что антитела к глутамату влияют на уровень глутамата в структурах мозга при его ишемических повреждениях (Романова Г.А. и соавт., 2011). Был выявлен защитный эффект антител к глутамату (АТ к ГЛУ) в дозе 250 мкг/кг при интраназальном постстрессорном введении на показатели двигательной активности и болевой чувствительности у животных при комбинированном водно-иммерсионном стрессорном воздействии (Захарова И.А. и соавт., 2010). Полученные данные указывают на возможность иммуномодуляции активности ГГН оси антителами к ГЛУ при стрессе и, как следствие, на возможность опосредованной коррекции постстрессорных иммунных нарушений.

Целью работы было изучение влияния АТ к ГЛУ на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов периферической крови после стрессорного воздействия у мышей линии С57В1/6. В работе использовали одностороннюю комбинированную водно-иммерсионную модель стресса, которая заключалась в иммобилизации мышей в тесных пластиковых цилиндрах с отверстиями и погружении их в воду (температура +20 — +21°C) до уровня шеи животных. АТ к ГЛУ получали из иммуноглобулиновой фракции сыворотки крови кроликов, иммунизированных конъюгатом глутамат—бычий сывороточный альбумин (БСА) с последующей аффинной очисткой от антител к БСА. АТ к ГЛУ вводили интраназально в дозе 250 мкг/кг сразу после стрессорного воздействия. Контрольным группам мышей вводили физиологический раствор и γ -глобулин интактного кролика в той же дозе.

У животных определяли фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов и нейтрофилов периферической крови. Макрофаги вымывали из брюшной полости мышей средой 199, клеточную смесь ресуспендировали, после чего по 2 мл взвеси макрофагов стерильно разливали в пробирки, в которые помещали покровные стекла и инкубировали в течение 2 ч при 37°C. После прикрепления клеток к поверхности покровного стекла культуральную среду удаляли и заменяли свежей, в которую добавляли 5×10^6 микробных клеток 24-часовой культуры *Staphylococcus aureus* (штамм «Жаев»). После инкубации в течение 1 ч стекла извлекали, промывали их физиологическим раствором, прикрепившиеся клетки фиксировали метиловым спиртом и окрашивали азур-эозином по Романовскому—Гимзе. Подсчитывали процент участвующих в фагоцитозе клеток (фагоцитарное число) и число бактерий, захваченных одним фагоцитом (фагоцитарный индекс). В камере Горяева проводили подсчет лейкоцитов периферической крови и селезенки.

Было выявлено, что стресс вызывал подавление фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов и нейтрофилов периферической крови в 1,5 и 2 раза (фагоцитарное число) соответственно. Введение АТ к ГЛУ приводило к полному восстановлению фагоцитарной активности, как перитонеальных макрофагов, так и полиморфнонуклеарных лейкоцитов периферической крови. АТ к ГЛУ также нормализовали относительное и абсолютное количество лимфоцитов периферической крови и селезенки, нарушенное стрессорным воздействием. Интраназальное введение γ -глобулина не оказывало влияние на исследуемые показатели.

Таким образом, установлен протективный эффект АТ к ГЛУ на один из основных показателей естественного иммунитета — фагоцитоз перитонеальных макрофагов и полиморфнонуклеарных лейкоцитов периферической крови.

Изменения активностей аденозиндезаминазы и CD-26 при экспериментальном диабете и острой гипоксии

Золотов Н.Н.

ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН, Москва, Россия

Сегодня сахарный диабет (СД) первого и второго типов ведущие диabetологи мира относят к аутоиммунным заболеваниям. По многочисленным данным, СД имеет много признаков, позволяющих отнести заболевание к аутоиммунным: а) сочетание диабета с другими заболеваниями аутоиммунной природы, при которых доказано наличие аутоантител; б) наличие инсулита у больных, умерших вскоре после начала диабета; в) выявление у больных антител к ангиогенам островков поджелудочной железы и нарушения клеточно-опосредованного иммунитета. В настоящее время известна инкретиновая (пептидная) теория СД типа 2. Известно, что инактивация инкретинов — глюкагоноподобного пептида первого типа (ГПП-1) и глюкозозависимого инсулиотропного пептида (ГИП), осуществляется ферментом дипептидилпептидазой-4 (ДПП-4). Лекарственные препараты для защиты ГПП-1 и ГИП от деградации ДПП-4 являются наиболее продаваемыми в мире. Ингибиторы ДПП-4 выделены в новый класс лекарственных препаратов, которые ежегодно продаются на 15—20 млрд долл.

Сериновая протеиназа ДПП-4 является также кластером трансформации лимфоцитов CD-26 и белком, связывающим аденозиндезаминазу (АДА), фермента участвующего в обмене пуринов и дефицит которого приводит к развитию синдрома иммунодефицита. Таким образом, взаимодействуя с клеточной поверхностью Т-лимфоцита и их взаимодействие может объяснить патогенез аутоиммунных заболеваний. Повышенный уровень АДА в плазме крови позиционируется в качестве патогенетического маркера СД типа 2. Высокий уровень АДА, гормонов и медиаторов воспаления наблюдается также и при гипоксии. В данном исследовании мы определяли активность АДА и ДПП-4 в плазме крови мышей при стрептозотоциновой модели диабета и острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией у крыс и мышей.

Активность АДА определяли спектрофотометрически по гидролизу аденозина по снижению поглощения при 265 нм. ДПП-4 определяли по гидролизу флуорогенного пептидного субстрата. Внутривентрикулярное введение стрептозотоцина приводило к стабильному повышению уровня глюкозы в плазме крови и активностей АДА и ДПП-4. Уровень глюкозы и активность ферментов снижались после введения ингибиторов ДПП-4 (Галвус, Новартис и Янувия, Мерк). При острой гипоксии у мышей мы также наблюдали повышение активности АДА и ДПП-4 в плазме крови. Ингибиторы ДПП-4 при этом показали значительный противогипоксический эффект.

В обоих экспериментах наблюдалась четко выраженная корреляция между уровнями активности АДА и ДПП-4, уровнем глюкозы в крови крыс и противогипоксическим эффектом у мышей. Полученные нами результаты подтверждают участие АДА и ДПП-4 в патогенезе СД и гипоксии.

Провоспалительные цитокины как фактор формирования когнитивных дисфункций

Зубарева О.Е., Клименко В.М.

ФГБУ Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, С.-Петербург, Россия

Провоспалительные цитокины интерлейкины -1 β , -6 (ИЛ-1 β , ИЛ-6) и фактор некроза опухолей α , открытые как медиаторы межклеточных взаимодействий в иммун-

ной системе, на сегодняшний день рассматриваются в качестве основных посредников нейроиммунных взаимодействий. Доказано их участие в развитии центральных компонентов продромального синдрома. Активно обсуждается их роль в патогенезе депрессивных состояний и нейродегенеративных процессов. Показано влияние провоспалительных цитокинов на мозговые механизмы нейропластичности, обучения и памяти.

Проводимые нами исследования доказали, что умеренное повышение уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе, приводит к отдаленным (выявляемым у взрослых крыс), изменениям исследовательского поведения и различных видов памяти (долговременной, но не краткосрочной), причем нарушения обучения максимально выражены при введении цитокина в течение 3 недели жизни. Среди механизмов когнитивных дисфункций, вызываемых повышением уровня провоспалительных цитокинов в раннем возрасте, могут быть изменения активности дофаминергической и глутаматергической систем мозга, а также нарушение экспрессии генов белков, вовлеченных в регуляцию процессов нейропластичности. В частности, нами показано, что у взрослых крыс, которым вводили ИЛ-1 β в течение 3 недели жизни, в фоне (без когнитивной нагрузки) отмечается пониженное содержание уровня дофамина и его метаболита DOPAC во фронтальной коре. В условиях когнитивной нагрузки (при выработке условного рефлекса активного избегания) экспериментальные крысы отличаются более высоким уровнем метаболизма дофамина во фронтальной коре, увеличением продукции мРНК отдельных типов дофаминовых рецепторов в клетках гиппокампа и фронтальной коры и понижением продукции в клетках гиппокампа мРНК FGF2 и TIMP1 — белков, вовлеченных в регуляцию процессов обучения и памяти.

Нарушения, вызываемые повышением уровня ИЛ-1 β в раннем постнатальном онтогенезе, могут лежать в основе отдельных симптомов, характерных для синдрома дефицита внимания и шизофрении.

Морфометрические показатели мантии лимфоидных узелков пищеварительной системы как маркер иммунологических изменений при психоэмоциональном стрессе (экспериментальное исследование)

Иванова Е.А.¹, Коплик Е.В.²

¹ ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

У 80 поведенчески активных и 80 пассивных крыс-самцов Вистар изучали микроанатомию лимфоидных образований желудочно-кишечного тракта после воздействия острого эмоционального стресса (одноразовая иммобилизация с электрокожной стимуляцией) (Судаков К.В., 1998, Коплик Е.В., 2002). Для морфометрических исследований с помощью стереологического метода Г.Г. Автандилова (1990) измеряли площадь центров размножения и мантии у одиночных и групповых лимфоидных узелков (лимфоидных бляшек) в стенках тощей и подвздошной кишок и аналогичных структур у брыжеечных лимфоузлов. Также в отдаленные и ближайшие сроки после прекращения стресса были измерены площадь межузелковых зон у лимфоидных бляшек, коркового и мозговых синусов, мякотных тяжей, а также паракортикальной зоны у брыжеечных лимфоузлов.

В нашей работе установлено, что наибольшие изменения площади вышеперечисленных морфофункциональных зон выявлены со стороны мантий у лимфоидных узелков. Известно, что здесь по сравнению с другими исследованными лимфоидными структурами располагалось наибольшее количество малых лимфоцитов — наиболее многочисленных клеток лимфоидного ряда. Считается, что при стрессовом воздействии усиливается миграция лимфоцитов в центральные и периферические органы иммунной системы, что повышает функциональную активность лимфоидной ткани.

Так, в группе поведенчески пассивных крыс выявлено уменьшение площади мантии у одиночных лимфоидных узелков в стенках тощей кишки сразу после окончания стресса на 25% (было — 7,65 мкм², стало — 5,7 мкм²), на 1-е сутки на 35%, на 3-и сутки на 42%, на 7-е сутки на 25% и на 14-е сутки на 16%, тогда как у поведенчески активных крыс в аналогичной структуре у тощей кишки уменьшение площади мантии было обнаружено только на 1-е сутки после стресса на 20% (было — 7,44 мкм², стало — 5,33 мкм²), на 3-и сутки на 32% и на 7-е сутки на 18%.

Площади мантий у групповых лимфоидных узелков (лимфоидных бляшек) в стенках подвздошной кишки у пассивных животных уменьшились сразу после прекращения стресса на 20% (было — 7,49 \pm 0,42 мкм², стало 6,00 \pm 0,24 мкм²), на 1-и сутки на 33%, на 3-и сутки на 36%, на 7-е сутки на 25%. У поведенчески активных крыс в аналогичной структуре уменьшение площади мантии зафиксировано только на 1-е сутки на 22% (было 6,08 \pm 0,26 мкм², стало 4,02 \pm 0,14 мкм²) и на 3-и сутки на 28%.

В брыжеечных лимфатических узлах у пассивных животных уменьшение площади мантий у лимфоидных узелков сразу после окончания стрессовой нагрузки составило 15% (было — 6,24 \pm 0,54 мкм², стало 5,32 \pm 0,34 мкм²), на 1-е сутки — 24%, на 3-и сутки — 29% и на 7-е сутки — 20%. У поведенчески активных крыс в аналогичной структуре уменьшение площади мантий зафиксированы на 1-е сутки на 15% (было 4,48 \pm 0,38 мкм², стало 3,52 \pm 0,25 мкм²) и на 3-и сутки на 21%.

При этом у поведенчески активных и пассивных крыс во все сроки эксперимента площадь центра размножения у одиночных и групповых лимфоидных узелков и аналогичной структуры у брыжеечных лимфоузлов практически не изменялась ($p > 0,05$). Стабильность площади и клеточного состава центра размножения у лимфоидных узелков, скорее всего, связана с поступлением в эту структуру новых клеток, взамен разрушенных в результате перераспределения иммунных клеток между регионарными лимфоидными органами.

Динамика содержания биогенных аминов в коре головного мозга при постстрессорном геморрагическом инсульте (экспериментальное исследование)

Иванникова Н.О., Коплик Е.В., Крылин В.В., Перцов С.С.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

Целью настоящей работы являлось определение влияния эмоционального стресса на течение геморрагического инсульта и динамику содержания биогенных аминов в сенсомоторной коре головного мозга у крыс с различной стресс-резистентностью.

Работа проведена на 54 Активных и Пассивных по поведенческому тестированию крысах линии Вистар.

Крыс стрессорных групп (Активных и Пассивных) подвергали эмоциональному стрессорному воздействию,

используя модель агрессивно-конфликтного поведения при 24-часовой фиксации крыс за хвосты (Юматов, 1986). После стрессорного воздействия крыс оперировали, создавая экспериментальный геморрагический инсульт.

Всем контрольным крысам была проведена ложная операция геморрагического инсульта за 1 сутки до начала экспериментов. Геморрагический инсульт моделировался введением в область хвостатого ядра левого полушария 60 мкл собственной крови (методика Deinsberger W., 1996). Операция проводилась под хлоралгидратным наркозом (400 мг/кг массы тела). Всем контрольным крысам была проведена ложная операция геморрагического инсульта за 1 сутки до начала экспериментов.

Через 1 сутки, 3 и 7 суток после операции у животных исследовали неврологический статус (шкала Menzes), тест поведения животных в углу и тест предпочтения опоры (Beliaeva, 2003).

Одновременно с моделированием инсульта производили операцию по вживлению микродиализных зондов в сенсомоторную кору правого полушария головного мозга. В работе использовали концентрические зонды с размером пор мембраны 20 Да. Через 24 ч после операции по вживлению зондов производили эксперименты по сбору диализатов. Время сбора одного диализата составляло 20 мин. Перед началом эксперимента, зонды перфузировали в течение 2 ч для установления равновесия веществ по обе стороны мембраны. Сбор диализатов проводили в контроле, на 1-е, 3 и 7 сутки после моделирования геморрагического инсульта.

Содержание катехоламинов в диализатах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией при применении колонки GOLD TURBO ODS 4 — 1,5 мкм, 33x4,6 мм фирмы «MAISCH». Анализ достоверности различий проводили с помощью дисперсионного анализа и расчета t-критерия Стьюдента.

Установлено, что базальный уровень биогенных аминов в сенсомоторной коре мозга зависел от индивидуальной стресс-резистентности крыс и определял неврологические изменения в условиях геморрагического инсульта. Вызванные внутримозговым кровоизлиянием изменения в содержании биогенных аминов в сенсомоторной коре мозга у пассивных (стресс-чувствительных) крыс более выражены, чем у активных (стресс-резистентных) животных. Содержание биогенных аминов в сенсомоторной коре у активных крыс возвращается к фоновым показателям к 7-м суткам после внутримозгового кровоизлияния. Об адаптации и улучшении состояния активных крыс в этот период свидетельствует и повышение содержания дофамина, серотонина и 5-ОИУК в коре мозга. Стрессорное воздействие до внутримозгового кровоизлияния практически не вызывало ухудшения показателей биогенных аминов в сенсомоторной коре головного мозга крыс по сравнению с интактными животными.

Исследование динамики геморрагического инсульта у крыс с различной устойчивостью к стрессу выявило у них разные пути перестройки катехоламинового метаболизма.

Индукция аутоантител к нейромедиаторам при невропатической боли

Игонькина С.И., Графова В.Н., Смирнова В.С., Ветрилэ Л.А., Захарова И.А.

ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия

Антитела, направленные против нейромедиаторов и их рецепторов, обнаруживаются при различных неврологических заболеваниях: эпилепсии, болезни Альцгеймера, у пациентов с геморрагическим и ишемическим инсуль-

том, мультифокальной моторной невропатии, рассеянном склерозе. Нейромедиаторные системы играют важную роль в механизмах развития болевых синдромов, однако данные об участии аутоантител к нейромедиаторам в патогенезе невропатической боли отсутствуют.

Целью настоящей работы было изучение возможности образования аутоантител к ключевым нейромедиаторам антиноцицептивной и ноцицептивной систем на модели невропатической боли.

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. В работе использована экспериментальная модель невропатической боли, вызванная перерезкой седалищного нерва задней конечности у крыс. Для оценки выраженности невропатической боли использована 11-балльная шкала степени аутономии. Аутоантитела к нейромедиаторам глутамату, ГАМК, серотонину, норадреналину и дофамину в сыворотке крови животных исследовали с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа, проводимого на полистироловых планшетах, сенсбилизированных соответствующими тест-антигенами. Содержание антител оценивали по оптической плотности сыворотки крови и выражали в условных единицах активности (усл.ед.) показателем K , представляющим собой отношение оптической плотности сыворотки крови каждого подопытного животного к среднему значению оптической плотности сыворотки интактных крыс.

Результаты и заключение. Установлено, что развитие невропатической боли сопровождается усиленной продукции аутоантител к возбуждающим и тормозным нейромедиаторам. Показано, что у животных с невропатической болью через 2—4 недели после травмы периферического нерва, когда болевой синдром достигает максимального развития, аутоантитела к глутамату индуцируются в 64,5% случаев, к ГАМК в 66,7% случаев, к серотонину — в 74% случаев, к норадреналину — в 73,3% случаев, к дофамину — в 78% случаев. Показатель K , выражающий содержание антител к нейромедиаторам у подопытных животных, соответствовал для антител к глутамату $K=1,46\pm 0,06$ усл. ед. активности, к ГАМК — $K=1,45\pm 0,06$ усл. ед., к норадреналину — $K=1,56\pm 0,09$ усл. ед., к серотонину $K=1,78\pm 0,3$ усл. ед., к дофамину $K=1,85\pm 0,3$ усл. ед. активности. Аутоантитела к указанным нейромедиаторам у интактных крыс не были выявлены. Мишенью действия антител к нейромедиаторам при невропатической боли являются антиноцицептивные и ноцицептивные структуры системы болевой чувствительности. Индуцируемые при болевом синдроме аутоантитела к возбуждающим и тормозным нейромедиаторам могут существенно влиять на баланс возбуждения — торможения в ноцицептивной системе, усиливая или ослабляя активность ноцицептивных нейронов, и тем самым модулируя выраженность невропатической боли.

Прооксидантно-антиоксидантный баланс тканей головного мозга крыс с разной прогностической устойчивостью к стрессу: эффекты интерлейкина-4

Калиниченко Л.С., Перцов С.С., Коплик Е.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

Эмоциональный стресс у млекопитающих сопровождается нарушением баланса между интенсивностью окислительных реакций и активностью антиоксидантной защиты в тканях. Значимость этих процессов в структурах

ЦНС обусловлена избытком свободного кислорода и дефицитом антиоксидантных ферментов в нейронах (Adibhatla R.M., Hatcher J.F., 2008).

Патогенез поражений при стрессе связан с развитием иммунной дисфункции и, в частности, с изменением цитокинового профиля биологических сред (Перцов С.С. с соавт., 2009). Цитокины, являющиеся медиаторами межклеточных взаимодействий, регулируют целый ряд процессов в условиях нормы и патологии (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Противовоспалительный цитокин интерлейкин-4 (ИЛ-4) вовлечен в развитие острой фазы стрессорной реакции, подавляя функциональную активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса (Turnbull A., Rivier C., 1999).

В предыдущих исследованиях обнаружены выраженные различия устойчивости млекопитающих к негативным последствиям стрессорных нагрузок. Выявлено, что поведенчески активные в тесте «открытое поле» крысы прогностически более устойчивы к стрессорным воздействиям по сравнению с пассивными особями (Коплик Е.В., 2002).

Целью представленной работы было изучение характера влияния ИЛ-4 на окислительные и антиоксидантные процессы в эмоциогенных структурах мозга (гипоталамус, сенсомоторная кора, миндалина) у крыс с разной прогностической устойчивостью к патологическим последствиям, развивающимся в условиях однотипных стрессорных воздействий.

Опыты проведены на 52 крысах самцах Вистар с активным и пассивным типами поведения в «открытом поле». В постановке эксперимента руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН. За 1 ч до стрессорной нагрузки животным вводили ИЛ-4 (5 мкг/кг, в/б) или физиологический раствор. Моделью острого эмоционального стресса служила 1-часовая иммобилизация с одновременным электрокожным раздражением подпороговой силы. Содержание ТБК-реактивных продуктов (конечных метаболитов ПОЛ) и активность антиоксидантных ферментов — глутатионпероксидазы (ГП), глутатиоредуктазы (ГР), Cu/Zn-супероксиддисмутазы (СОД) — в эмоциогенных структурах ЦНС определяли спектрофотометрическими методами.

Введение ИЛ-4 крысам вызывало накопление ТБК-реактивных продуктов в гипоталамусе, что сопровождалось активацией ГП и СОД в этой структуре головного мозга. Отсутствие интенсификации ПОЛ в сенсомоторной коре у активных и пассивных особей могло быть обусловлено первичным увеличением активности ГП и СОД. Разнонаправленные изменения активности антиоксидантных ферментов в миндалине активных особей, выявленные после введения ИЛ-4, предупреждали изменения интенсивности ПОЛ. Накопление ТБК-реактивных продуктов в миндалине пассивных животных, по-видимому, было связано со снижением активности ГП и СОД на фоне инъекции ИЛ-4.

Предварительное введение ИЛ-4 предупреждало стресс-индуцированное накопление ТБК-реактивных продуктов и изменение активности ГП в сенсомоторной коре пассивных крыс. ИЛ-4 нивелировал снижение активности ГР в гипоталамусе активных особей после стрессорной нагрузки.

Таким образом, ИЛ-4 оказывает модулирующее действие на прооксидантно-антиоксидантный баланс тканей мозга у крыс с различными характеристиками поведения и соответственно с разной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу.

Некоторые итоги вакцинации детей с эпилепсией

Каплина С.П., Скрипченко Н.В., Харит С.М.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций» Федерального Медико-биологического агентства России, Санкт-Петербург

За последние десятилетия накоплено достаточно данных о взаимосвязи эпилепсии и иммунных нарушений. Вакцинация детей с эпилепсией является одной из актуальных и сложных проблем, поскольку именно эти дети могут давать необычные реакции на прививки и поствакцинальные осложнения. Это определяет частоту медицинских отводов от вакцинации. Несмотря на абсолютное противопоказание к введению коклюшного компонента, в остальном дети с эпилепсией могут быть привиты в соответствии с национальным календарем.

Целью данного исследования было изучение безопасности и эффективности анатоксинов и живых вакцин у детей с эпилепсией.

Материалы и методы. Представлены данные по вакцинации 45 детей с эпилепсией и 25 здоровых, составивших группу сравнения (ГС). Из анамнеза детей с эпилепсией известно, что беременность у 60% матерей протекала на фоне угрозы прерывания и гестозов, дети родились в состоянии гипоксии — средний балл по шкале Апгар составил $5,8 \pm 0,8$ (в группе сравнения $7,8 \pm 0,2$, $p < 0,05$), у 50% детей уже в родильном доме отмечались судороги. У 88,9% детей диагностирована генерализованная симптоматическая эпилепсия, у 11,1% фокальная височная эпилепсия. На электроэнцефалограмме (ЭЭГ) выявлены нарушения корковой ритмики, у 71,4% детей — фокусы эпи-активности в височных и/или лобных областях, у остальных — генерализованная эпи-активность. Дети были вакцинированы не ранее, чем через 1 мес. после судорожного приступа на фоне приема базисной противосудорожной, а в ряде случаев, и дегидратационной терапии. Вакцину АДС-М получили 22 ребенка с эпилепсией (в ГС-9), моновакцину против кори — 22 (в ГС — 6), дивакцину против кори-паротита — 4 детей (в ГС — 5) и 4 — Приорикс против кори-паротита-краснухи (в ГС — 5). Для оценки эффективности вакцинации через 1 мес. и более после двух или трехкратного введения вакцины АДС-М, и через 45 дней и более после введения дивакцины или Приорикса, определяли титры антител к дифтерии — в РПГА стандартным методом (лаборатория микробиологии человека ФГУ «НИИДИ ФМБА России»), к кори и паротиту — в реакции ИФА (вирусологическая лаборатория ФГУ «НИИДИ ФМБА России»).

Результаты и выводы. Поствакцинальный период у 86,4% детей с эпилепсией, привитых АДС-М протекал гладко, причем у 73,7% бессимптомно. Отмечали только слабые поствакцинальные реакции. 13,6% на 10–14 дни после прививки заболели острыми респираторными инфекциями. Поствакцинальных реакций на введение дивакцины и Приорикса не отмечено, заболели по одному ребенку (ОРВИ на 7 и 10 дни вакцинального периода). При введении моновакцины обычные поствакцинальные реакции наблюдали у 45,5% привитых (слабые в 63,7%, средней силы в 9,1%, сильные в 27,2%). У 3 детей (13,6%) развились респираторные инфекции, осложненные отитом и бронхитом. В группе сравнения была 1 местная реакция на введение АДС-М, заболеваний в поствакцинальном периоде не отмечено. Наличие эпилепсии не влияло на уровень антител к дифтерии, у всех привитых сформировались защитные титры (в среднем $6,7 \pm 0,7 \log_2$, в ГС $6,2 \pm 2,1 \log_2$). Уровень антител к кори в группе детей с

эпилепсией составил в среднем $4,66 \pm 0,3 \log_2$, к паротиту $0,78 \pm 0,1$ о.е., в группе сравнения $4,5 \pm 0,9 \log_2$ и $0,63 \pm 0,3$ о.е. соответственно. Паротитная вакцинация оказалась неэффективной у 40% привитых.

Таким образом, показана безопасность и эффективность вакцинации анатоксинами и живыми вакцинами детей с эпилепсией. У всех привитых формируются защитные титры антител к дифтерии и кори и у 60% к паротиту. Необходимо проводить контроль титров антител к паротиту через 6—12 мес. после вакцинации, для решения вопроса о дополнительной ревакцинации детям, не сформировавшим антитела.

Бактерицидная и кислородзависимая активность сегментоядерных нейтрофилов крови при алкогольном абстинентном синдроме

Каримова Р.Ш., Панченко Л.Ф., Давыдов Б.В.

ФГБУ ННЦ наркологии МЗиСР России

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Работами последних десятилетий доказано, что алкогольная интоксикация сопровождается серьезными нарушениями врожденного и адаптивного иммунитета. Являясь важным компонентом защитной системы, нейтрофилы как основное звено естественного иммунитета, выполняют свою основную функцию путем сложного многоступенчатого процесса фагоцитоза в зоне воспаления и кровеносном русле.

В связи с этим изучено состояние антимикробной и кислородзависимой активности нейтрофилов крови больных в состоянии алкогольного абстинентного синдрома.

Обследовано 25 больных алкоголизмом, мужского пола, средний возраст которых составил $36,1 \pm 1,4$ года, с длительностью заболевания от 3 до 10 лет. Исследование проводилось на 1, 3, 5 и 7 сутки алкогольного абстинентного синдрома (ААС).

Фагоцитарную активность сегментоядерных нейтрофилов исследовали по активности захвата и переваривания бактерий *E.coli*. Рассчитывали ФП (фагоцитарный показатель) — процент нейтрофилов, участвующих в одной из стадий фагоцитоза (аттракции, поглощения, переваривания и лизиса микробов) из 100 сосчитанных нейтрофилов. ФЧ (фагоцитарное число) — число микробов, поглощенных одним нейтрофилом. А также фазы завершеного фагоцитоза (ЗФ) и суммарные показатели фаз регенерации клеточных элементов нейтрофилов после завершения переваривания микробов (СЭВ). Состояние оксидантной микробицидной системы гранулярных лейкоцитов определяли по показателям теста с нитросиним тетразолием (ТСТ-тест). Свободнорадикальное окисление оценивали по состоянию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в реакции с тиобарбитуровой кислотой (МДА). Активность супероксиддисмутазы (СОД) — по степени подавления скорости восстановления нитросинего тетразолия супероксидным радикалом.

Полученные данные выявили патологическую активность сегментоядерных нейтрофилов у больных алкоголизмом, проявляющаяся в ускоренном выходе сегментоядерных нейтрофилов в фазу завершения фагоцитоза (2,5 раза) и регенерации клеточных элементов после завершения процесса переваривания микробов (2,5—3 раза) относительно контрольного значения ($p < 0,01$). Причем, наибольшая активность процесса морфофункционального восстановления нейтрофилов отмечалось на 1 сутки (89,4%) и 3 сутки (82,3%) ААС. В последующие дни на-

блюдается тенденция незначительного снижения активности нейтрофилов, однако суммарные показатели завершенности фагоцитоза почти в 1,5 раза остаются выше, чем в группе контроля ($p < 0,05$). Кроме того, выявлено двукратное уменьшение количества поглощенных микроорганизмов внутри нейтрофила у больных алкоголизмом в отличие от группы здоровых ($p < 0,05$). Показатели НСТ-теста имеют тенденцию умеренного снижения с 1 по 7 сутки наблюдения, однако остаются статистически недостоверными ($p > 0,05$). Содержание в сыворотке крови продуктов перекисного окисления липидов (МДА) к концу 7 суток незначительно снижается при двукратном увеличении исходного уровня по сравнению с контролем ($p < 0,01$), а активность СОД, напротив, возрастает (на 60%) после двукратного её снижения на 1 сутки исследования по сравнению с границами нормы. Таким образом, высокие показатели завершенности фагоцитоза при низкой способности к поглощению микробов и восстановлению НСТ указывают на снижение бактерицидных свойств нейтрофилов у больных с алкогольной зависимостью, что можно объяснить увеличением продуктов ПОЛ и снижением активности СОД при алкогольном абстинентном синдроме.

Противосудорожное действие антител к глутамату на фокальную эпилептическую активность

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

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

Ранее нами были получены данные об иммунокорригирующем действии антител к глутамату (АТ к ГЛУ) на острую генерализованную эпилептическую активность (ЭПА) при активной иммунизации конъюгатом ГЛУ-БСА мышей разных генетических линий и при их системном введении. Показано, что АТ к ГЛУ оказывают противосудорожное действие, вызывая повышение порогов клонических судорог и тонической фазы судорог с летальным исходом, а также увеличивают латентный период появления указанных судорог. Этот эффект был выявлен и у животных с повышенной в результате киндинга (хронической эпилептизации мозга) судорожной готовностью мозга.

Целью настоящего исследования было изучение влияния предварительного интраназального введения АТ к ГЛУ на фокальную ЭПА, вызванную аппликацией фильтровальной бумаги, смоченной раствором натриевой соли бензилпенициллина в концентрации 30 000 МЕ/мл на область сенсомоторной коры мозга животных. Опыты проведены на ненаркотизированных свободно передвигающихся крысах самцах линии Вистар массой 200—220 г с регистрацией электрокортикограммы. АТ к ГЛУ получали путем гипериммунизации кроликов породы Шиншилла конъюгированным антигеном ГЛУ-БСА, синтезированным с использованием бифункционального реагента — глутарового альдегида. Животные были разделены на три группы. Контролем служили животные с введением физиологического раствора и интактного (неиммунизированного) γ -глобулина — 1-я и 2-я группы соответственно. Опытным животным 3-й группы вводили очищенные АТ к ГЛУ. АТ к ГЛУ и γ -глобулин вводили интраназально в дозе 300 мкг/кг в 10 мкл физиологического раствора пипеткой с тонким наконечником по 5 мкл в каждую ноздрю за час до аппликации пенициллина. Контрольным животным 1-й группы в аналогичных условиях опыта вводили физиологический раствор. Введение АТ к ГЛУ приво-

дило к двукратному увеличению латентного периода появления первых интериктальных разрядов по сравнению со 2-й группой животных. Латентный период появления первых иктальных разрядов в этой группе животных увеличился в 3—5 раз, а частота их генерирования уменьшалась в 7—6 раз по сравнению с 1-й и 2-й группами животных. Продолжительность существования очагов ЭПА была меньше по сравнению с животными 1-й группы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности АТ к ГЛУ в условиях их предварительного введения оказывать противосудорожное действие и на модели фокальной пенициллин-индуцированной ЭПА. Следует отметить, что в данных условиях опыта наиболее выраженным противосудорожным эффектом являлось ослабление частоты генерирования ИР. Противосудорожное действие АТ к ГЛУ связано с подавлением активности глутаматергической системы в результате их проникновения в ЦНС и взаимодействия с ГЛУ.

Анализ исследования иммунного ответа при внутримозговом введении клеток головного мозга плодов мышей 13—15-х суток гестации

Ключникова А.И.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», Киев, Украина

На современном этапе нейротрансплантологии широкомасштабным и спорным является вопрос о использовании эмбриональных нейроцитов для восстановления функций ЦНС при нейродегенеративных заболеваниях, но существенных успехов не достигнуто. Известно, что процессы дифференцировки или трансдифференцировки *in vitro* или *in vivo* в зрелые клетки, сопровождаются экспрессией антигенов гистосовместимости, что есть поводом для их конфликта с иммунной системой реципиента.

Целью исследований было изучение способности фетальных нейроцитов к индукции иммунного ответа при введении в мозг, который считался иммунологически изолированным органом.

Методы исследований. Изучалась цитотоксическая активность клеток селезенки и лимфоузлов мышей-реципиентов относительно аллогенных клеток донора в МТТ-цитотоксическом тесте, а также определялся уровень аллоцитотоксических антител в микролимфоцитотоксическом тесте. Иммунный ответ исследовался в динамике на 6-е, 12-е и 18-е сутки после введения аллоантигена.

Результаты. В МТТ-цитотоксическом тесте показано, что показатели цитотоксического индекса лимфоцитов как при внутримозговом, так и при внутримышечном способе введения, достоверно выше, чем значения цитотоксического индекса лимфоцитов не иммунизированных животных. Таким образом, полученные результаты указывают на индукцию клеточного иммунного ответа на введение фетальных клеток головного мозга мышей 13—15-х суток гестации, независимо от места введения аллогенных клеток, что позволяет говорить о наличии антигенов гистосовместимости на фетальных нейрональных клетках, достаточно для запуска иммунного ответа. При определении уровня аллоцитотоксических антител в комплементзависимом тесте с трипановым синим в сыворотке крови мышей, которым в мозг вводили суспензию фетальных нейроцитов, уровень аллоцитотоксических антител был не высоким и только на 12-е сутки после введения аллоантигена наблюдалось незначительное его повышение, а также следует отметить что их уровень был до-

стоверно выше, чем у животных, которых не иммунизировали. При введении фетальных клеток внутримышечно уровень аллоцитотоксических антител также был очень низким, но достоверно отличался от контроля. Выводы: таким образом, можно предположить, что на клетках фетального мозга 13—15-х суток гестации экспрессируется достаточное для запуска иммунного ответа количество антигенов главного комплекса гистосовместимости. Установлено, что фетальные клетки головного мозга вызывали преимущественно только клеточный ответ за счет накопления в организме мышей-реципиентов цитотоксических клеток и повышение цитотоксической активности. Таким образом, проведенный анализ результатов может подтвердить, что иммунологическая изолированность мозга «условная», поэтому при внутримозговом введении суспензии аллогенных нейроцитов наблюдается специфический иммунный ответ организма, подобен до такого после внутримышечного введения этих клеток. Наши результаты могут подтверждать предположение, что введенные фетальные аллогенные клетки с мозга попадают в общий кровоток, на что организм реагирует активацией клеточного звена иммунитета.

Врожденный иммунитет при болезни Альцгеймера

Ключник Т.П., Андросова Л.В., Михайлова Н.М.

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

Болезнь Альцгеймера (БА) — медленно прогрессирующее, нейродегенеративное заболевание, характеризующееся нарушением памяти и на поздних стадиях — нарушениями мышления, речи и восприятия и приводящее к фатальному исходу.

По данным ВОЗ, в настоящее время в мире БА поражены 18 млн чел. Предполагается, что к 2025 г. это число практически удвоится.

В мире разработаны различные методы лечения болезни Альцгеймера, однако, на сегодняшний день они не способны остановить развитие заболевания, удается лишь несколько смягчить симптомы или затормозить развитие болезни, но лишь в том случае, если она обнаружена на ранней стадии.

В связи с вышесказанным, ранняя диагностика болезни Альцгеймера, а также новые патогенетические способы терапии этого заболевания приобретают особую значимость.

За последнее десятилетие накопились данные о роли врожденного иммунитета в патогенезе этого заболевания. Отмечены качественные и количественные изменения во всех клетках врожденного иммунитета как в кровяном русле, так и в мозге, где роль иммуноцитов выполняет микроглия. Выявлен дефект функционирования толл-подобных рецепторов (toll-like receptor, TLR) иммуноцитов пациентов с БА (вероятно, генетически-обусловленный), который сопровождается избыточной продукцией провоспалительных цитокинов и других гуморальных факторов, следствием чего является субклиническое хроническое воспаление.

Считается, что эндогенным фактором, активирующим TLR при БА, является внеклеточный β -амилоид. На начальных этапах заболевания активация микроглии играет защитную роль и препятствует образованию амилоидных бляшек. Развитие заболевания сопровождается дисфункцией микроглии, заключающейся в 2,5-кратном повышении синтеза провоспалительных цитокинов и других факторов воспаления.

При БА выявлен также дефект функционирования микроглиальных рецепторов-мусорщиков «scavenger receptors», связывающих β -амилоид, а также показано снижение синтеза β -амилоид-деградирующих ферментов (инсулин-деградирующий, неприлизин, ММР9).

Установлено, что моноциты и макрофаги больных БА обладают значительно сниженной фагоцитарной активностью β -амилоида. Выявлено снижение экспрессии Fc γ -рецепторов нейтрофилов у пожилых людей. Наши исследования показали снижение дегрануляционной активности нейтрофилов у пациентов БА по сравнению со здоровыми сверстниками.

Выявленные дефекты врожденной иммунной системы при БА, а именно — активация воспалительных реакций, а также сниженная фагоцитарная активность макрофагов, рассматриваются в качестве новых потенциальных терапевтических мишеней при БА, а также для создания ранних диагностических тестов БА.

Коррекция тималином нейрорегуляторных и микроциркуляторных нарушений на ранних стадиях атерогенеза

Кобозева Л.П., Мичунская А.Б., Клименко Е.Д., Поздняков О.М.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

В настоящее время установлено, что важным звеном атерогенеза является нарушение иммунологического статуса организма. Известно, что гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система (ГГНС) является одним из основных звеньев нейроэндокринной регуляции липидного гомеостаза. Выраженность патологических изменений в магистральных артериях и микроциркуляторном русле (МЦР) коррелирует с функциональным состоянием ГГНС. Важная роль в патогенезе атеросклероза отводится также нарушениям функции эндокринных желез. В настоящей работе изучали возможность коррекции иммуномодулятором тималином морфофункционального состояния ГГНС, щитовидной железы и надпочечников, а также изменений в магистральных артериях и МЦР. Опыты проведены на 36 кроликах породы шиншилла массой 2,0—2,5 кг. В контрольной группе (1-я гр.) животных содержали на протяжении 2 мес. на стандартном рационе вивария. Кролики 2-й группы получали холестерин в количестве 0,3 г/кг массы тела с овощами (АТД) в течение 2 мес. В 3-й группе животным через 1 мес. АТД вводили в/м тималин в дозе 25 мг/кг. Анализ полученных результатов производили с помощью гистологических и гистохимических методов (Гомори — Майоровой, Ниссля, Миленкова, Гольдмана, гематоксилин — эозином, Маллори). О выраженности патологического процесса судили по индексу атеросклеротического поражения аорты (ИАП) по Г.Г. Автандилову. В сыворотке крови определяли содержание различных фракций липопротеидов и малонового диальдегида. Состояние МЦР оценивали на тотальных пленочных препаратах брыжейки тонкой кишки, импрегнированных азотнокислым серебром по В.В. Куприянову. Морфометрию микрососудов проводили на полуавтоматической системе анализа изображения «Leitz — ASM». Установлен положительный эффект тималина (3-я гр.) на ГГНС и эндокринные железы, что, очевидно, связано с иммунокорректирующими свойствами этого пептида. Коррекция нарушений в нейроэндокринной системе сопровождалась ингибированием ПОЛ, восстановлением липидного гомеостаза, меньшей выраженностью изменений в магистральных артериях и МЦР. Представленные материалы свиде-

льствуют о необходимости применения в целях профилактики и терапии атеросклероза воздействий, направленных на различные патогенетические звенья этого процесса.

Эмоциональный компонент боли после стимуляции, введения местного анестетика и иммуноактивного вещества в каудальный отдел поясного пучка мозга у крыс

Козлов А.Ю.¹, Никенина Е.В.^{1,2}, Абрамова А.Ю.¹

¹ ФГБУ НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва

² Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Эксперименты проведены на 48 крысах-самцах Вистар массой 250—300 г. При проведении экспериментов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», (протокол №1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. Пирогенал (5 мкл; 0,05 мкг липополисахарида), физиологический раствор (5/2 мкл) или Лидокаин (2 мкл, 1% р-р) вводили в каудальную часть поясного пучка головного мозга животных (AP=−4,3 мм, L=+1 мм, H=1,5 мм) с помощью шприца Гамильтона под нембуталовым наркозом (30 мг/кг в/б). Электростимуляцию указанной зоны проводили импульсным током (длительность тока — 0,5 мс, частота — 200 имп/с, время — 20 с). Эмоциональный компонент боли оценивали по порогу вокализации (ПВ, мА) в ответ на электрокожное раздражение хвоста. Электрический ток подавали от 0,1 мА до появления вокализации. Оценивались исходные показатели и после манипуляций с поясным пучком мозга в сроки, соответствующие максимальному эффекту соответствующих манипуляций (Funchs P.N., 1992; Vaccarino A.L., 1989, Козлов А.Ю., 2012). В контрольных группах ПВ достоверно не изменялся. После электростимуляции и локального введения Лидокаина наблюдали достоверное повышение ПВ с 0,7 до 1,8 и с 1,0 до 1,6 соответственно ($p < 0,05$), тогда как после микроинъекции Пирогенала отмечали достоверное снижение этого показателя с 0,61 до 0,42 мА ($p < 0,05$). Таким образом, локальная потенциация аксональной активности, равно как и местная блокада проведения возбуждения по аксонам поясного пучка приводит к снижению эмоционального компонента боли. Локальная активация иммунных реакций приводит к повышению эмоционального ответа. Предполагается, что активированное глиальное окружение поясного пучка мозга может участвовать в облегчении эмоционального компонента боли, тогда как нейроны и их аксоны могут принимать участие в снижении эмоционального компонента боли.

Интраназальное введение антител к глутамату изменяет профиль экспрессии генов программируемой гибели в префронтальной коре и гиппокампе мозга крыс с нарушениями памяти, вызванными введением $A\beta_{25-35}$

Колобов В.В.², Давыдова Т.В.¹, Ветрилз Л.А.¹, Фомина В.Г.¹, Захарова И.А.¹, Горбатов В.Ю.¹, Феденко А.А.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

² ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН, Москва, Россия

Активация микроглии, дисбаланс эндосомально-лизосомальной сигнальной системы клеток, ингибирование тканевых окислительных систем и развитие нейротоксических эффектов глутамата способствуют при болезни Альцгеймера (БА) развитию программируемой гибели нейронов головного мозга, где в качестве основных эф-

факторных молекул выступают поли(ADP-рибозо)полимераза-1, апоптоз-индуцирующий фактор и каспаза-3.

С одной стороны, поли(ADP-рибозо)полимераза-1 формирует чрезмерное количество поли(ADP-рибозо)полимеров, которые перемещаются из ядра в митохондрии, приводя к высвобождению и перемещению апоптоз-индуцирующего фактора в ядро, где совместно с неидентифицированной эндонуклеазой он расщепляет ДНК на крупные фрагменты в 50 т.п.н. С другой стороны, к внутринуклеосомной фрагментации ДНК с образованием фрагментов в 180–300 п.н. приводит активация β -полипептида ДНК-фрагментирующего фактора проапоптотической каспазой-3.

Ранее в работах на крысах с экспериментальной БА, вызванной двусторонним введением 0.4 нмоль нейротоксического фрагмента β -амилоидного белка $A\beta_{25-35}$ в гигантоклеточные ядра Мейнерта, показано улучшение воспроизведения условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) после интраназального введения 300 мкг/кг АТ-Глу. АТ-Глу оказывают защитный эффект на нарушения памяти, обусловленные распространенными дегенеративными изменениями нейронов фронтальной коры и гиппокампа. Интраназальный путь введения является эффективным способом доставки в центральную нервную систему различных веществ, так как анатомо-гистологические особенности его строения позволяют доставлять в центральную нервную систему лекарственные соединения белковой природы, минуя гематоэнцефалический барьер.

Целью исследования была поведенческая оценка нарушений памяти при выработке УРПИ с параллельной молекулярно-генетической характеристикой влияния интраназального введения АТ-Глу на уровень экспрессии генов апоптоз-индуцирующего фактора (*Aifm1*), каспазы-3 (*Casp3*), поли(ADP-рибозо)полимеразы-1 (*Parp1*) и β -полипептида ДНК-фрагментирующего фактора (*Dffb*) в префронтальной коре (ПК) и гиппокампе (Г) крыс на ранней стадии экспериментальной БА.

Материалы и методы. АТ-Глу получали от кроликов, иммунизированных конъюгатом глутамат-бычий сывороточный альбумин. Молекулярно-генетическую часть проводили в соответствии с рекомендациями производителей реактивов («Promega», «Sigma», «Invitrogen»). УРПИ выработывали по [Буреш и др., 1978]. В зависимости от условий статистическую обработку проводили с применением *W*-критерия Шапиро—Уилка, *H*-критерия Крускала—Уоллиса, *U*-критерия Манна—Уитни, *T*-критерия Вилкоксона и критерия χ^2 ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение. К 3 суткам у крыс с введением $A\beta_{25-35}$ изменяется транскриптом клеток ПК и Г в направлении программируемой гибели. Действительно, в ПК достоверно увеличивается экспрессия следующих изученных генов: гена *Aifm1* — в 4,9 раз, гена *Casp3* — в 2,8 раза, а гена *Parp1* — в 4,5 раза; в Г документировано существенно меньшее увеличение экспрессии генов: *Aifm1* — в 2,7 раза, гена *Casp3* — в 2 раза, а для гена *Parp1* зафиксировано даже снижение экспрессии в 2,5 раза (по сравнению с уровнем интактных животных). АТ-Глу не оказывают влияния при введении интактным крысам, однако достоверно снижают повышенную экспрессию у животных с введением $A\beta_{25-35}$.

В эксперименте не было обнаружено выраженной индукции экспрессии мРНК гена *Dffb* в исследуемых структурах мозга крыс — достоверное увеличение в ПК всего на 2%, а в Г на 5% — при введении $A\beta_{25-35}$, что, вероятно, можно объяснить ранним сроком наблюдения, за который весь каскад нейрохимических событий при БА не успевают еще развернуться полностью, либо это связано с поддер-

жанием в клетках головного мозга постоянного уровня неактивного фермента *Dffb*, и эффективность его работы связана не с увеличением наработки мРНК, а с переходом неактивного комплекса в активное состояние. Тем не менее на фоне экспериментальной БА и введения АТ-Глу наблюдали понижение транскрипционной активности гена *Dffb* в ПК на 37%, а в Г на 62%, а γ -глобулин — нет.

Нормализация экспрессии генов *Aifm1* и *Casp3* в ПК и Г специфична для АТ-Глу, поскольку в группе крыс, получавших после операции γ -глобулин, экспрессия этих генов остается увеличенной (по отношению к интактным животным). Снижение АТ-Глу уровня экспрессии гена *Parp1* в ПК носит неспецифический характер, так как γ -глобулин показал аналогичный результат. Однако следует отметить, что АТ-Глу более выражено снижают в ПК экспрессию гена *Parp1*, чем γ -глобулин, а в Г эффектов от введения АТ-Глу и γ -глобулина не было — уровень экспрессии *Parp1* оставался пониженным в 2,5 раза.

На 3 сутки после введения в мозг $A\beta_{25-35}$ у крыс развивались значительные нарушения долговременной памяти, выражающиеся в снижении абсолютных значений латентного времени перехода в темную камеру при воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения, а также в уменьшении показателя его возрастания в день тестирования относительно дня обучения по сравнению со значениями, полученными в интактном контроле. Таким образом, введение $A\beta_{25-35}$ вызывает амнестический эффект, нарушая формирование и/или хранение долговременной памяти.

Анализ выполнения УРПИ крысами, получавшими интраназально АТ-Глу через час после инъекций $A\beta_{25-35}$, выявил, что показатели долговременной памяти у них не отличались от контроля. Интраназальное введение γ -глобулина крысам через час после введения $A\beta_{25-35}$ не оказало влияния на уровень воспроизведения навыка: при тестировании максимальный уровень выполнения навыка в этой группе составил только 33,3% случаев.

После нанесения отрицательного подкрепления — электрокожное раздражение — латентный период захода в темный отсек у интактных животных, ложнооперированных и группы ($A\beta_{25-35}$ +АТ-Глу) возрастал в 72 раза, тогда как у группы ($A\beta_{25-35}$ + γ -глобулин) — всего лишь в 1,5 раза, а у группы ($A\beta_{25-35}$ + H_2O) не наблюдалось существенных изменений этого параметра, отражающего степень закрепления УРПИ (по сравнению с показателями в день обучения).

При выработке УРПИ в контроле относительное количество животных, не перешедших в темный отсек в течение 180 с, то есть продемонстрировавших максимально возможный уровень выполнения навыка, составило 83,3% крыс, в то время как у крыс с введением $A\beta_{25-35}$ — только 16,7% животных ($p < 0,025$).

Выводы. Основной симптомокомплекс, развивающейся при БА, характеризуется развитием когнитивных нарушений, в частности, нарушений памяти. В ходе настоящего исследования установлено, что в условиях экспериментальной БА наблюдаются нарушения памяти и регионарно увеличивается экспрессия ряда генов программируемой гибели в ПК и Г. ПК интегрирует информацию и регулирует активность Г при извлечении памяти.

Впервые получены данные, свидетельствующие о снижении повышенной экспрессии генов апоптоз-индуцирующего фактора, каспазы-3, поли(ADP-рибозо)полимеразы-1 и β -полипептида ДНК-фрагментирующего фактора с параллельным улучшением показателей памяти при интраназальном введении АТ-Глу крысам через 1 ч после

введения ундекапептида A β ₂₅₋₃₅ в ядра Мейнерта. Регуляция процессов функционирования нейроглиальных ансамблей головного мозга в норме и при нейродегенеративных заболеваниях сложна и разнообразна на всех уровнях организации — от молекулярно-генетического до организменного. Механизм действия АТ-Глу на экспрессию генов *Aifm1*, *Casp3*, *Parp1* и *Dffb* при экспериментальной БА требует дальнейшего изучения.

В настоящее время представляется наиболее вероятный путь участия АТ-Глу в программируемой гибели клеток ПК и Г через опосредованное влияние АТ-Глу на уровень глутамата и/или активность N-метил-D-аспартатных рецепторов, поскольку функциональной основой нейронных сетей Г, принимающего существенную роль в обеспечении когнитивных функций, является глутаматергическая нейромедиация, дисбаланс которой способствует развитию каскада эксайтотоксичности, в ходе чего наблюдается гибель нейронов при БА.

Сопоставительный анализ изменения антиоксидантной системы защиты организма и иммунного статуса в остром и раннем периодах осложненной травмы шейного отдела позвоночника

*Конюченко Е.А., Ульянов В.Ю.,
Бажанов С.П., Карякина Е.В.*

ФГБУ «СарНИИТО» МЗУСР РФ, Саратов, Россия

Цель: провести сопоставительный анализ изменения показателей перекисно-антиоксидантного баланса организма и иммунного статуса в остром и раннем периодах осложненной травмы шейного отдела позвоночника

Материал и методы. Объект исследования составили 60 больных с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника и спинного мозга, среди которых было 30 больных без бронхолегочных осложнений и 30 — с бронхолегочными в остром и раннем посттравматическом периоде. Иммунологические и биохимические исследования проводились в динамике на 1–4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки с момента получения травмы в основной группе и однократно в контрольной группе. Материалом для исследования были образцы сыворотки крови, полученные по стандартной методике.

Результаты. При благоприятном течении острого и раннего периода осложненной травмы шейного отдела позвоночника обнаружена положительная статистически достоверно высокая корреляционная взаимосвязь уровня МДА с концентрацией ФНО- α ($R=0,92$) и ИЛ-6 ($R=0,91$), а также отрицательная умеренной выраженности с ИЛ-4 ($R=-0,51$) и Ig G ($R=-0,41$).

Присоединение инфекционных (бронхолегочных) осложнений приводило к возникновению новых достоверных отрицательных корреляционных взаимосвязей умеренной степени: уровня ЦП и МДА ($R=-0,64$), а также ЦП и ФНО- α ($R=-0,40$) и ИЛ-6 ($R=-0,41$); а также новых положительных корреляционных взаимосвязей: ЦП с ИЛ-4 ($R=0,68$) и IgG с ИЛ-4 ($R=0,32$). Усиливалась отрицательная связь МДА с ИЛ-4 ($R=-0,87$) и несколько ослабевала связь МДА с IgG ($R=-0,27$). Кроме того, произошло усиление корреляционной отрицательной связи ИЛ-6 с ИЛ-4 ($R=-0,70$) и снижение — с IgG ($R=-0,44$).

Выводы: у больных с осложненной травмой шейного отдела позвоночника отмечается ряд статистически достоверных корреляционных взаимосвязей между показателями перекисно-антиоксидантного баланса, про- и противовоспалительными цитокинами, а также Ig G в сыворотке крови.

Имунокорригирующее действие актовегина при геморрагическом инсульте (экспериментальное исследование)

Кульчиков А.Е.¹, Морозов С.Г.¹, Гриненко Е.А.²

¹ *ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия*

² *ФГБУ «Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» РАМН, Москва, Россия*

Введение. Геморрагический инсульт (ГИ) является одной из самых тяжелых форм цереброваскулярной патологии. Отмечено, что при ГИ у больных часто развиваются иммунные нарушения, которые приводят к развитию инфекционно-воспалительных осложнений, таких, как пневмония и т.д. Исходя из этого, для коррекции данных нарушений требуются лекарства, оказывающие нейропротекторное и иммунокорректирующее действие.

Цель: изучение иммунокорригирующего действия актовегина при экспериментальном геморрагическом инсульте.

Материалы и методы. Опыты выполнены на 50 нелинейных белых мышках самцах, массой 20–25 г. Животные были разделены на 5 опытных групп по 10 животных в каждой группе. Первая группа — интактные животные, вторая группа — ложнооперированные животные, третья группа — животные с ГИ, четвертая группа — животные с ГИ + плацебо, пятая группа — животные с ГИ + «актовегин». ГИ моделировали, путем подсечения правой внутренней капсулы металлическим мандреном. Актовегин («Никомед», Норвегия) вводили внутривенно в дозе 0,3 мл на кг. У животных оценивали первичный иммунный ответ (гемолизины — ГЛ и гемагглютинины — ГА), клеточное звено иммунитета (реакция гиперчувствительности замедленного типа — РГЗТ), а также массу тимуса и селезенки на 14 сутки после моделирования ГИ.

Результаты. У животных с ГИ (масса тимуса: $32,4 \pm 1,9$ мг; масса селезенки: $162,3 \pm 12,1$ мг) и ГИ+плацебо (масса тимуса: $31,4 \pm 2,1$ мг; масса селезенки: $167,2 \pm 13,1$ мг) отмечается достоверное уменьшение массы тимуса и селезенки по сравнению с группой ложнооперированных животных (масса тимуса: $42,8 \pm 2,1$ мг; масса селезенки: $191,2 \pm 17,1$ мг) ($p < 0,05$ по отношению к группе ложнооперированных животных). В остром периоде экспериментального ГИ наблюдается снижение титра гемолизина (ГИ: $8,2 \pm 1,2 \log$; ГИ+плацебо: $8,4 \pm 1,3 \log$) при одновременном увеличении титра гемагглютининов (ГИ: $8,6 \pm 1,4 \log$; ГИ+плацебо: $9,1 \pm 1,2 \log$), и повышении РГЗТ ($2,1 \pm 0,3$), что указывает на несостоятельность иммунного ответа при воздействии тимусзависимого антигена ($p < 0,05$ по отношению к группе ложнооперированных животных). Использование актовегина приводит к восстановлению массы тимуса ($39,4 \pm 3,4$) и селезенки ($189,5 \pm 15,7$ мг) и нормализации уровня ГЛ ($13,2 \pm 1,3$), ГА ($6,2 \pm 1,4$) и РГЗТ (1,3) достоверно по сравнению с группой ложнооперированных животных ($p < 0,05$).

Выводы. Экспериментальный геморрагический инсульт сопровождается нарушением иммунного ответа; использование актовегина приводит к нормализации иммунного ответа.

Изучение противоопухолевого действия сыворотки крови кролика, иммунизированного эмбриональными нервными клетками

Лисяный Н.И., Ключникова А.И.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины», Киев, Украина

Все чаще в современной литературе встречаются данные о том, что глиобластомы имеют незначительное ко-

личество опухолевых стволовых клеток, которые экспрессируют молекулу CD 133⁺, которая в норме экспрессируется на нормальных стволовых клетках. Учитывая эти данные, нас заинтересовало изучение действия сыворотки крови кролика, которая имеет антитела против эмбриональных нервных клеток.

Экспериментальным крысам с глиомой мозга штамма 101,8 А, на 10-е, 13-е сутки после перевивки опухоли вводили исследуемую сыворотку, которая содержит антитела к эмбриональным нервным клеткам головного мозга. Для исследования животных разделили на три группы: 1-я группа сравнения, животным этой группы вводили сыворотку крови не иммунизированного кролика; 2-я группа животных, которым сыворотку крови иммунизированного кролика вводили в мозг, а животным 3-й группы внутримышечно.

Наши исследования показали, что средняя продолжительность жизни крыс с глиомой мозга группы сравнения, которым вводили сыворотку крови интактных животных составляла $16,0 \pm 0,6$ суток, тогда, как средняя продолжительность жизни крыс с глиомой мозга, которые не подлежали лечению составляла 16 ± 1 суток.

Средняя продолжительность жизни крыс с глиомой мозга, которым в мозг вводили сыворотку крови кролика иммунизированного эмбриональными нервными клетками составляла $19,5 \pm 0,6$ суток, что достоверно продлевает срок жизни больных животных (на 3,5 суток).

Внутримышечное введение сыворотки крови кролика иммунизированного эмбриональными нервными клетками мозга продлевало среднюю продолжительность жизни животных на 2,5 суток.

Таким образом, исследования сыворотки крови кролика, содержащей антитела к эмбриональным нервным клеткам на злокачественных глиомах головного мозга установили достоверное продление жизни животных с опухолями, что следует принимать во внимание в клинической практике лечения онкологических больных.

О возможных причинах осложнений при внутримозговых кровоизлияниях

Литвиненко Л.М.¹, Коплик Е.В.², Гилязова Л.Б.¹

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН Москва, Россия

Известно, что в 80% случаев причиной смерти больных после инсульта являются различные инфекционно-воспалительные осложнения. Частота осложнений увеличивается при наличии хронических заболеваний (Васильева И.Г., Чопик Н.Г., Кульчиков А.Е., Макаренко А.Н., 2006). Существует также обоснование возникновения инсульт-ассоциированных осложнений вследствие поражения тканей (в том числе головного мозга) реактивированной латентной инфекцией на фоне сниженного иммунитета (Ершов Ф.И., 1996). Однако в литературе нет конкретных данных о состоянии иммунной системы, объясняющей причину возникновения осложнений при геморрагических инсультах в сроки от 3-х до 5-х суток и позже. Для решения этой проблемы мы провели экспериментальное исследование на 63 стрессоустойчивых крысах-самцах линии Вистар, разделенных на контрольную группу, ложнопериорированных животных с повреждением хвостатого ядра и группу животных с экспериментальным кровоизлиянием в левое хвостатое ядро на 1-е, 3-и и 7-е сутки, гистологическими методами были изучены печеночные лимфатические узлы, кото-

рые, в большей степени по сравнению с остальными органами лимфоидной системы, отражают общий иммунный ответ, а также сенсомоторную область коры крыс. В результате исследования было установлено, что на протяжении 7 суток у крыс с повреждением хвостатого ядра происходит уменьшение паракортикальной зоны, уменьшение количества плазматических клеток и макрофагов в печеночных лимфатических узлах, что формирует некоторую иммунологическую толерантность, которая является защитной реакцией для мозга при нарушении гематоэнцефалического барьера. При кровоизлиянии в левое хвостатое ядро макрофагальная реакция волнообразно колеблется: резко увеличивается на 1е сутки (показатели выше нормы), уменьшается — на 3-и сутки и несколько повышается, но не достигает нормы на 7-е сутки, что подтверждает стимулирующее влияние аутокрови на лимфоидную систему. В связи с чем, на 1-е сутки иммунологическая толерантность нарушается, о чем говорит подъем макрофагальной реакции, и мозг становится уязвим. В сенсомоторной коре крыс в этот период возникают деструктивные изменения в сосудах и в нейронах (уменьшается количество нейронов и снижается белково-синтезирующая их активность). На 3-и сутки происходит новообразование капилляров, появляются нейроны в состоянии относительного покоя и нормальной активности, что совпадает, с восстановлением исходной толерантности иммунной системы в это время. Однако низкий уровень макрофагов и плазмочитов в этот период может быть причиной активации латентной инфекции, что может привести к различным инфекционно-воспалительным осложнениям. А на 7-е сутки после экспериментального кровоизлияния в левое хвостатое ядро у крыс деструктивные изменения сосудов и нейронов сенсомоторной зоны коры головного мозга уменьшаются, в печеночных узлах несколько повышается количество макрофагов, что может говорить о начале некоторого восстановления иммунного статуса и ткани мозга.

Иммуномодулирующая и нейротропная функция стволовых клеток при демиелинизирующем и нейродегенеративном поражении нервной системы

Макаров С.В., Танаева Н.И.

Самарский медицинский институт «РЕАВИЗ» Министерства образования и науки РФ, Самара, Россия

В последнее десятилетие активно развивается одно из новых направлений современной медицины-регенеративная медицина, основой которой являются доминирующие фундаментальные и прикладные исследования в области биологии стволовой клетки. По-прежнему малоизученными остаются механизмы направленной дифференцировки постнатальных стволовых клеток, возможности стволовых клеток нервной ткани (СКНС), их влияние на функционирование иммунной системы, участие в нейроиммунном взаимодействии при демиелинизирующих и нейродегенеративных поражениях нервной системы. Обсуждение отдельных вопросов участия различных пулов постнатальных стволовых клеток в саногенезе ЭАЭ, рассеянного склероза (РС), экспериментальной модели паркинсонизма было целью данной работы. Применение гемопоэтических стволовых клеток после иммуноаблативной терапии при РС приводит к функциональной переустановке клеточного и гуморального звеньев иммунной системы с поддержанием иммуносупрессивных механизмов. В настоящее время известны иммуномодулирующие свойства мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) при рассеянном склерозе

(Liang J. et al., 2009; Одинак М.М. и соавт., 2011 и др.). Участие ММСК в саногенезе РС связано с ингибированием: активации антигенспецифичных Т-лимфоцитов, выработкой γ -интерферона лимфоцитами, а также экспрессией активационных маркеров Т-клеток. Гемопозитические и мезенхимальные стромальные стволовые клетки участвуют в образовании и регуляции нейротропных и ангиогенных факторов: G-CSF, VEGF, SDF-1- α и др., формирующих молекулярные нейротрофические и иммуномодулирующие саногенетические механизмы при патологии нервной системы. Вероятно, сочетанное применение гемопозитических и мезенхимальных стромальных стволовых клеток, способных влиять на нейрогенез при демиелинизирующих аутоиммунных поражениях, позволит достичь лучших клинических результатов. Модификация СКНС, позволяющая им экспрессировать ИЛ-10 с активацией процессов ремиелинизации, оказывает устойчивый терапевтический эффект на животных моделях рассеянного склероза (J. Yang, 2009 et al.). Один из возможных механизмов ремиелинизации и уменьшения аксонального повреждения при ЭАЭ связан с пролиферацией и дифференцировкой СКНС в олигодендроциты (Pluchino S. et al., 2003; Lou Brundin 2003). ММСК были предложены в качестве эффективного средства лечения экспериментальной модели паркинсонизма (Park H.J., 2008 и др.). В экспериментальном исследовании (Murrell W. et al., 2008; Yasuhara T., 2006) наблюдается позитивный клинический эффект, связанный с восстановлением функции дофаминергических нейронов при трансплантации обонятельных стволовых клеток, обладающих нейротропной функцией; отмечена их способность к дифференцировке в специализированные нейроны. В экспериментальных моделях паркинсонизма также рассматривается вопрос о возможной функциональной интеграции культуры нейрональных стволовых клеток в пул дофаминергических нейронов с дегенеративными изменениями (Lindvall O. et al., 2004; Pardal R. et al., 2012 и др.), а также разработка для нейро-трансплантации биотехнологии культивирования дофаминергических нейробластов (Politis M. et al., 2012).

Дальнейшее развитие клеточных технологий в экспериментальной и клинической медицине открывает новые возможности и перспективные направления в терапии малокурабельных заболеваний нервной системы.

Нейротоксически свойства микотоксина фумонизина В1

Мартынова Е.А.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Фумонизин В1 (FB1) ($C_{34}H_{59}NO_{15}$, *M* 721) — это микотоксин, продуцируемый плесневыми грибами рода *Fusarium* (*F.moniliforme*, *F.proliferatum*, *F.anthophilum*, *F.dlamini*, *F.narifforme*, *F.nygatai*). Человек или животные могут быть контаминированы FB1 при употреблении в пищу заплесневелого зерна. Биологическое значение FB1 определяется его канцерогенными и токсическими свойствами: так, у человека FB1 вызывает рак пищевода, у грызунов — рак печени и почек, у свиней — отек легких, у лошадей — отек мозга. Нейротоксические свойства FB1 у грызунов были исследованы поверхностно, просто было показано, что он оказывает определенное токсическое влияние.

Целью нашей работы было исследование молекулярных механизмов нейротоксического действия FB1 у мышей различных линий и возраста.

Материалы и методы. Мыши линий СВА, Balb/c, C57Bl/6 и DBA нескольких возрастных групп (12 недель, 4 мес., 12 мес.). Работа проведена на самках, так как согласно литературным данным они более чувствительны к действию токсинов, чем самцы. Фумонизин В1 (Sigma) вводился внутривентриально в концентрациях от 0,01 до 1,0 микроМ однократно. Эффект токсина оценивали через 3 часа, 24 часа и на 5-й день после введения. Мышей забивали декапитацией, извлекали органы и мозг, ткани гомогенизировали в среде RPMI 1640 с 5% эмбриональной телячьей сыворотки. Полученные первичные культуры клеток отмывали, фиксировали и окрашивали антителами и ДНК-связующими красителями, затем исследовали на проточном цитометре. Часть мозга подготавливали для иммуногистохимии, замороженные срезы окрашивали антителами и анализировали на флуоресцентном микроскопе.

Результаты. Было показано, что однократное введение FB1 в дозе $\geq 0,1$ микроМ оказывает токсическое влияние на мозг мышей всех исследованных линий. Наиболее выраженное действие FB1 обнаружено у старых мышей (12 мес.). Было выявлено, что FB1 вызывает аутоиммунную реакцию в тканях мозга, что регистрировалось по наличию В-лимфоцитов и плазматических клеток, продуцирующих тканеспецифические антитела. Активированные В-клетки и плазматические клетки были идентифицированы в мозге мышей уже через 3 часа после введения токсина, пик накопления этих клеток приходился на 4-й день, когда в мозге были обнаружены антителопродуцирующие клетки. Также было показано, что активированные В-лимфоциты расположены в тесном контакте с $CD4^+CD25^+$ регуляторными Т-лимфоцитами. После введения FB1 клетки мозга начинают экспрессировать рецепторы фактора некроза опухолей (TNF-R1 и TNF-R2) более выражено, чем в контроле. Под действием FB1 возрастает процент клеток в апоптозе, что определялось по одновременной окраске пропидиумом иодиодом и аннексином-5, а также по повышению экспрессии активированной каспазы-8, каспазы-2 и каспазы-3. Показаны митохондриальные нарушения под действием FB1, которые связаны с падением митохондриального мембранного потенциала $\Delta\Psi_m$, с повышением экспрессии белков Bax, Bad и снижением экспрессии Bcl-2. Показано изменение экспрессии белков теплового шока (HSP25, HSP40, HSP60 и HSP90) в клетках мозга после введения FB1.

Выводы. Микотоксин фумонизин В1 обладает нейротоксическим действием, которое проявляется даже при однократном его введении мышам. Молекулярные механизмы влияния на мозг связаны с развитием аутоиммунной патологии, активацией апоптоза и повреждением митохондрий.

Влияние тималина на морфофункциональное состояние некоторых органов, биохимические показатели крови и изменения формы эритроцитов в периферической крови на ранних стадиях атеросклероза

Мичунская А.Б., Кобозева Л.П., Клименко Е.Д., Поздняков О.М.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

В настоящее время признана важная роль иммунного фактора в патогенезе атеросклероза. С помощью световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии изучали возможность коррекции иммуномоду-

лятором тималином патологических изменений в органах (печень, сердце, селезенка) на фоне повышения в крови животных атерогенных липопротеидов, уровня малонового диальдегида (МДА) и атеросклеротических изменений в стенке аорты. Определяли также степень трансформации эритроцитов на ранних стадиях атерогенеза. Опыты проведены на 36 кроликах породы шиншилла массой 2,0—2,5 кг. В контрольной группе (1-я гр.) кроликов содержали на протяжении 2 мес. на стандартном рационе. Животные 2-й гр. получали холестерин в дозе 0,3 г/кг массы тела с овощами (АТД) в течение 2 мес. В 3-й гр. животным через 1 мес. АТД вводили в/м тималин в дозе 25 мг/кг. У животных 2-й гр. отмечено уменьшение количества фолликулов белой пульпы в селезенке и снижение митотической активности клеток в их герминативных зонах. У кроликов этой группы наблюдалось также увеличение количества эритроцитов на фоне снижения нормоцитов в периферической крови. Изложенные факты могут свидетельствовать о снижении иммунитета и дыхательной функции крови уже на ранних стадиях атерогенеза. В печени и миокарде отмечены признаки неспецифического хронического воспаления (гепатит и миокардит). Введение на фоне дислипидемии тималина (3-я гр.) сопровождалось снижением уровня МДА, регрессией атеросклеротических изменений в аорте, восстановлением морфофункционального состояния органов и повышением процентного содержания нормоцитов по сравнению с эритроцитами в периферической крови животных, что можно трактовать как улучшение дыхательной функции крови. В селезенке увеличивалось количество и размеры фолликулов белой пульпы, и нарастала пролиферативная активность клеток их герминативной зоны, в результате чего повышался иммунный статус животных. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что коррекция состояния иммунной системы организма имеет важное значение для профилактики и терапии атеросклероза.

Перинатальные поражения ЦНС у детей от матерей с различным содержанием материнских аутоантител к белкам нервной ткани

*Морозов С.Г., Беседина М.В.,
Кожевникова Е.Н., Проценко А.М.*

*ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН,
Москва*

Цель исследования. Изучение изменений со стороны нервной системы у новорожденных и детей раннего возраста, рожденных от матерей с различным содержанием аутоантител (ААТ) к основному белку миелина (ОБМ), белку S-100, фракциям анионных негистоновых белков хроматина (АСВР-С), мембранных белков (МР-С) головного мозга.

Пациенты и методы. Проведено комплексное клиническое и лабораторное обследование 512 беременных и родившихся у этих женщин детей. Всем женщинам проводилось специальное обследование с 3-кратным взятием крови на сроках беременности 7—8, 14—15 и 21—23 недели для определения содержания ААТ к ОБМ, S-100, АСВР-С и МР-С. В зависимости от уровней исследуемых ААТ женщины были разделены на 5 групп. В 1-ю группу вошли 137 женщин со стабильно нормореактивными образцами сыворотки, во 2-ю — 95 пациенток со стабильно гиперреактивными результатами, в 3-ю — 178 женщин со стабильно гипореактивными образцами сыворотки. Группу 4 составили 63 беременные, у которых гиперреактив-

ные образцы сыворотки с течением беременности становились нормо- или гипореактивными, а 5-ю — 39 женщин, у которых во время беременности наблюдали подъем определяемых ААТ от гипо- или нормореактивности до гиперреактивности. Новорожденные дети также были разделены на 5 групп соответственно уровням исследуемых ААТ у их матерей. В процессе обследования детей в соответствии с поставленными задачами был использован комплекс клинических, лабораторных и функциональных методов исследования. Дети наблюдались в катамнезе длительно — до 2,5 лет.

Результаты. Дети от матерей с физиологическим уровнем ААТ к белкам ОБМ, S-100, АСВР-С, МР-С с 7-й по 23-ю недели беременности реже страдали перинатальным поражением ЦНС (ППЦНС) ($p=0,01$) по сравнению с младенцами, рожденными от женщин с девиантным уровнем ААТ (группы 2, 4 и 5). При катамнестическом обследовании выздоровление как исход перенесенного ППЦНС наступало у детей от матерей с физиологическим уровнем ААТ (группа 1) статистически значимо чаще, а пограничные состояния нервной системы встречались реже по сравнению с детьми из групп 2 и 5. Органического поражения нервной системы у детей 1-й группы выявлено не было.

Дети от матерей с повышенным уровнем ААТ (группа 2) страдали ППЦНС наиболее часто ($p<0,001$). Клинические проявления заболевания у детей данной группы были более выраженными, у половины из них отмечены морфологические изменения, а исход заболевания был наиболее тяжелым: выздоровление наблюдалось только у 24% детей.

Частота выявления ППЦНС у детей 3-й группы превосходила численность данной патологии в 1-й группе, но была ниже, чем в группе 2. В структуре последствий ППЦНС, как и в 1-й группе, преобладал синдром гипервозбудимости, который у 2/3 детей имел благоприятное течение и закончился выздоровлением. Пограничные состояния как исход заболевания отмечались у 34% детей, что 2 раза реже по сравнению со 2-й группой.

Дети от матерей группы 4 чаще страдали ППЦНС по сравнению с 1-й группой ($p<0,01$). При катамнестическом наблюдении прогноз у этих детей был более благоприятный по сравнению со 2-й группой, но менее благоприятный по сравнению с 3-й. При катамнестическом обследовании частота выявления пограничных состояний нервной системы была сопоставима с группой 3.

ППЦНС у детей 5-й группы отмечались статистически значимо чаще ($p=0,007$), чем в 1-й группе. В структуре заболевания преобладали синдром угнетения, судорожный синдром на фоне морфологических изменений, что говорит о тяжести процесса. Выздоровление у детей этой группы наступало статистически значимо реже по сравнению с 1-й группой ($p<0,01$); у 64% детей диагностированы различные пограничные состояния нервной системы.

Заключение. Физиологическое содержание определяемых ААТ у матери во время беременности может служить критерием нормального развития нервной системы ребенка. В том случае, если при беременности наблюдаются различного рода отклонения в их содержании, то детей можно отнести к группе риска развития патологии со стороны нервной системы, а определение уровней ААТ к белкам ОБМ, S-100, АСВР-С, МР-С при проведении предгравидарной подготовки можно рекомендовать для широкого внедрения в практическое здравоохранение с целью профилактики ППЦНС у новорожденных.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00803

Естественные антитела к биогенным аминам и опиоидным пептидам при дорсопатии с болевым синдромом: острая, хроническая боль и гендерные особенности

Морозова В.С.¹, Петроченко С.Н.¹, Польшаяная О.Ю.¹, Мосейкин И.А.², Мяжкова М.А.¹

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

² — *Городская клиническая больница им. С.П. Боткина, Москва, Россия*

Болевой синдром — это широко распространенное явление, ежедневно в мире около 4 млн. больных страдают от болей разной интенсивности. Главная роль в ноцицепции принадлежит структурам нервной системы, однако вместе с тем имеются данные, подтверждающие также значимую роль иммунной и эндокринной систем. В частности, клетки иммунной системы способны вырабатывать естественные антитела (е-Ат) к коротко живущим эндогенным биорегуляторам, что позволяет говорить об активном участии иммунной системы в регуляции механизмов возникновения и восприятия боли.

Ранее нами установлено, что у пациентов, страдающих интенсивными болями в спине, достоверно повышается уровень е-Ат к бета-эндорфину, дофамину, серотонину, орфанину и ангиотензину, по сравнению со здоровыми людьми.

Целью настоящего исследования было изучение изменений вышеуказанных показателей в зависимости от длительности протекания болевого процесса, а также пола больных, страдающих дорсопатией с болевым синдромом.

Обследовано 109 пациентов (51 мужчина и 58 женщин) с дорсопатией поясничного отдела позвоночника. Возраст пациентов составил от 16 до 72 лет (47±12 лет). В качестве контрольной группы исследовали сыворотку крови 36 здоровых людей (17 женщин и 19 мужчин). Их возраст составил от 22 до 58 (38±9 лет).

Было проведено сравнение больных, страдающих острой и хронической болью (от 6 мес.). По уровню е-Ат к ангиотензину значительно больше людей с острой болью имели повышенные значения е-Ат: 77% по сравнению с 45% в группе с хронической болью ($p < 0,05$). Подобное распределение показателей наблюдалось и для других нейромедиаторов — 53 и 33% для е-Ат к бета-эндорфину, 53 и 36% для е-Ат к серотонину, 50 и 34% для е-Ат к орфанину; однако эти различия для данной выборки наблюдаются на уровне тенденций ($0,05 < p < 0,1$). Для е-Ат к дофамину достоверного различия в группах с острой и хронической болью выявлено не было (37 и 43% пациентов с повышенным уровнем е-Ат). Предположительно, такое распределение может говорить о том, что ангиотензин играет более узкую роль в развитии боли, в то время как роль других медиаторов более многозначна. Поэтому для е-Ат к ангиотензину показана четкая картина различия по пациентам разных групп даже на небольшой выборке.

У больных с болевым синдромом наблюдались также различия уровня е-Ат для мужской и женской группы. Так, количество пациентов с повышенным и высоким уровнем е-Ат к дофамину среди мужчин составило 82%, а среди женщин — 57% ($p = 0,004$). В случае е-Ат к серотонину эти значения составили 71% (мужчины) и 48% (женщины), $p = 0,014$. Для е-Ат к ангиотензину — 72% (мужчины) и 49% (женщины), $p = 0,016$. Доля пациентов с высоким уровнем е-Ат к орфанину среди мужчин составила 25%, среди женщин — 58% ($p = 0,001$). По уровню е-Ат к бета-эндорфину в мужской и женской группе различий не выявлено ($p = 0,25$).

Длительность болевого синдрома влияет на уровень е-Ат к исследуемым нейромедиаторам, но эта зависимость не является диагностически значимой. Различия по полу более значимо отражаются на распределении уровней е-Ат, и это необходимо учитывать. Таким образом, изменение уровней е-Ат к ЭБ могут служить маркером состояния патологической алгической системы, который слабо зависит от длительности болевого синдрома, но имеет гендерную направленность.

Сравнительное определение нейроиммунных показателей для диагностики заболеваний зависимости

Мяжкова М.А., Морозова В.С., Михайлов М.А., Шипицын В.В., Брюн Е.А.

Научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения г.Москвы, Россия

В современной наркологии по клинико-социальным критериям все потребители психоактивных веществ подразделены на: эпизодически употребляющих ПАВ; употребляющих ПАВ с вредными для здоровья последствиями; страдающих нарко- или токсикоманиями. Такое разделение в целом отражает общую картину всех заболеваний зависимости, однако оказывается недостаточным для правильного понимания наркологической ситуации. Для верификации описанных выше групп, дополнительно к клиническим, психопатологическим, психологическим и социальным характеристикам, проведено исследование нейрорегуляторных систем (опиоидергической и серотонинергической) методом иммуноферментного анализа естественных антител (е-Ат) со специфическими антигенами.

Исследованы сыворотки крови 482 практически здоровых мужчин в возрасте $20,2 \pm 1,1$ года. Обнаружено, что у 21—26% обследованных имеются достоверные отклонения от среднестатистической нормы по содержанию е-Ат к эндорфину, серотонину, дофамину, гистамину, орфанину, ангиотензину. Отклонения наблюдались как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения. При дополнительном клиническом обследовании этих лиц было выявлено, что из указанных 125 чел. 30 чел. (24,0%) могут быть отнесены к группе 1 (эпизодически употребляющих) и 24 чел. (19,2%) к группе 2 (употребляющих с вредными последствиями). Такие отклонения в уровнях е-Ат могут указывать на характерное для предболезненных состояний снижение адаптационного потенциала у лиц с донозологическими формами психических и поведенческих расстройств, вследствие употребления психоактивных веществ. Они представляют собой первичные нарушения в нейрорегуляторной системе, сопровождающиеся изменением уровня и состава гуморальных факторов (е-Ат), которые в дальнейшем имеют тенденцию к углублению и наиболее отчетливо проявляют себя у больных нарко- и токсикоманий, относимых нами к 3 и 4 группам (со средне- и высокопрогредиентным типом течения заболевания соответственно).

При исследовании сыворотки крови 98 пациентов мужчин в возрасте $25,1 \pm 1,4$ года, в ремиссии страдающих нарко- и токсикоманиями, проходивших лечение в МПНЦ наркологии и относимых нами к 3 и 4 группам, было показано, что у подавляющего числа пациентов (88 чел., т.е. 89,8%) отчетливо снижен уровень е-Ат к серотонину, у 29 чел. (29,6%) одновременно со снижением уровня е-Ат к серотонину, снижен также и уровень е-Ат к дофамину. Эти пациенты по клиническим характеристикам соответствовали 3 группе. Для 10 чел. (10,2%) при

снижении уровня антител к серотонину наблюдалось повышение уровня антител к дофамину и дерморфину — так называемые «ножницы». Эти пациенты соответствовали 4 группе потребителей ПАВ.

Следует отметить, важны не столько изменения уровней отдельных нейромедиаторов, ассоциированных с теми или иными психическими изменениями, как соотношения этих уровней. В практическом плане соотношение уровней e-Ат к серотонину и дофамину оказалось наиболее удобным инструментом для биохимической верификации клинически выделенных групп потребителей ПАВ. Из клинических исследований известно, что наркомании с высокопрогредиентным типом течения встречаются в общей массе больных примерно в 10—12% случаев, это совпало и с данными, полученными в нашей клинике.

Иммунофизиологические факторы риска эпизодического употребления наркотиков лицами подростково-юношеского возраста

Невидимова Т.И.¹, Давыдова Т.В.², Ветрилэ Л.А.², Ветлугина Т.П.¹, Батухтина Е.И.¹

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» Сибирского отделения РАМН, Томск, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Экспериментирование подростков с наркотическими веществами чревато повышением риска формирования зависимости. Потребность в такого рода экспериментах обусловлена не только социально-психологическими, но и биологическими факторами. Масштаб латентной наркотизации чрезвычайно велик, и в настоящее время не существует надежных методов диагностики склонности к эпизодическому употреблению психоактивных веществ, отличных от алкоголя и табака.

Ранее нами определен вклад таких факторов, как агрессивность, особенности гендерной самоидентификации, болевой чувствительности и иммунологических реакций в формирование влечения к психоактивным веществам на более поздних этапах аддиктивного поведения — злоупотребления психоактивными веществами и зависимости от них, что диктует необходимость выявления групп риска задолго до формирования зависимости (Невидимова Т.И. с соавт., 2009, 2012). В эксперименте показано влияние антител к нейромедиаторам на поведение. В частности, индукция антител к норадреналину у животных усиливает проявления абстинентного синдрома и оказывает отсроченный анальгетический эффект (Ветрилэ Л.А. с соавт., 1993). У лиц с наркотической зависимостью уровень антител к нейромедиаторам, как правило, повышен (Мягкова М.А., 2009), но эти изменения могут быть следствием, а не фактором риска употребления наркотиков.

Для выявления факторов риска формирования наркотической зависимости нами обследовано 74 юноши и 66 девушек 17—22 лет. У 28 из них выявлено эпизодическое употребление наркотиков, преимущественно каннабиноидов и амфетаминов. У 48 имелся наркологический диагноз (употребление психоактивных веществ с вредными последствиями и зависимость от психоактивных веществ, в том числе опиатов). Контрольная группа состояла из 64 лиц, не имеющих опыта употребления наркотиков. Определяли индекс агрессивности в тесте Басса—Дарки, гендерный индекс в тесте Бем, уровень сывороточных аутоантител к дофамину, норадреналину, серотонину иммуноферментным методом (Давыдова Т.В. с соавт., 2002; Евсеев В.А. с соавт., 2007).

Средние уровни антител у пациентов выше, чем в контроле, а у лиц с эпизодическим употреблением ПАВ — ниже, чем в контроле. В целом, риск эпизодического употребления наркотиков повышается при повышении уровня агрессивности, преобладании маскулинных черт личности вне зависимости от пола, снижении (по сравнению с контролем) уровня антител к норадреналину. На этих параметрах основана регрессионная модель, патентуемая нами в настоящее время.

Таким образом, сниженный уровень антител к норадреналину можно считать фактором, предрасполагающим к употреблению наркотиков. Не исключено, что сниженный уровень антител соответствует норадреналиновой недостаточности и повышенной потребности в стимуляции выработки норадреналина веществами извне.

Работа поддержана грантом РГНФ 12-06-00673.

Прогностическая значимость технологии «Нейро-тест»

Отман И.Н., Зозуля С.А., Сарманова З.В., Ключник Т.П.

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

Медицинская технология «Нейро-тест» (разрешение на применение ФС №2011/405 от 13.12.11г.) — современный метод лабораторной диагностики последствий перинатальных поражений ЦНС (ПП ЦНС), включающий определение ряда иммунологических показателей в сыворотке крови. В рамках технологии «Нейро-тест» определяются: энзиматическая активность лейкоцитарной эластазы, функциональная активность α 1-протеиназного ингибитора и уровень идиотипических и антиидиотипических аутоантител к четырем белкам нервной ткани.

«Нейро-тест» позволяет выявить наличие текущего патологического процесса в нервной системе, уточнить его тяжесть, а также оценить выраженность компенсаторного потенциала.

Цель исследования — оценить прогностическую значимость «Нейро-теста» с использованием критериев доказательной медицины.

Материалы и методы. Обследовано 57 детей первого года жизни с клиническими признаками ПП ЦНС. Пациенты обследовались врачами-неврологами на базе детских поликлиник г.Москвы. Иммунологическое исследование проводили однократно; по результатам «Нейро-теста» были сформированы две группы детей: с наиболее лёгкими (отрицательный результат теста) и наиболее тяжёлыми (положительный результат теста) степенями изменения иммунологических показателей. Клиническое обследование проводилось дважды: на первом году жизни и через 1—2 года. На момент первого обследования в клиническом статусе пациентов преобладали: мышечная дистония, гидроцефальный и вегето-висцеральный синдромы. По степени их выраженности пациенты были разделены на две клинические группы: 1-я группа — «лёгкая» и 2-я группа — «тяжёлая». Сопоставлялись клинические и иммунологические показатели, и в последующий год прослеживалась динамика психомоторного развития ребенка. При повторном обследовании дети, у которых наблюдалось утяжеление неврологической симптоматики или отсутствие динамики, были отнесены ко 2 группе, а дети с положительной динамикой — к 1 группе.

Результаты и обсуждение. При первичной клинической оценке количество пациентов с лёгкой степенью тяжести составило 61% (n=35), с тяжёлой степенью — 39% (n=22). При этом по «Нейро-тесту» количество пациентов с отрицательным результатом теста составило лишь 44% (n=25), а с положительным — 56% (n=32). Таким обра-

зом, было выявлено несоответствие между клинической и иммунологической оценкой.

Однако при повторном обследовании количество детей во 2 группе увеличилось до 53% (n=30), а в 1 группе — снизилась до 47% (n=27), что соответствовало положительному и отрицательному результату теста.

Чувствительность и специфичность «Нейро-теста» составила 67% и 56%. Прогностическая ценность положительного (PV⁺) результата теста, т.е. вероятность утяжеления клинической симптоматики при положительном результате теста составила 63%. Прогностическая ценность отрицательного (PV⁻), т.е. вероятность относительной нормализации психомоторного развития при отрицательном результате теста составила 60%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высокой прогностической значимости технологии «Нейро-тест» для формирования групп риска детей 1-го года жизни по развитию нервно-психической патологии.

Дисбаланс реакции эктонуклеотидаз лимфоцитов периферической крови в ответ на стимуляцию опиоидных рецепторов как один из механизмов иммунной дисфункции у больных алкогольной и наркотической зависимостью

Панченко Л.Ф.^{1,2}, Пирожков С.В.², Тербилина Н.Н.², Наумова Т.А.², Баронец В.Ю.²

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» РАМН, РФ, Москва

² ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» МЗиСР РФ, Москва, Россия

Объединение нервной и иммунной систем в единую регуляторную ось определяется в числе прочего продукцией и секрецией клетками обеих систем идентичных регуляторных молекул и соответствующих им рецепторов. Это относится в частности к опиоидным рецепторам (ОР): к настоящему времени на иммунных клетках обнаружены все типы ОР, присутствующие в мозге. Одним из ферментов внутриклеточного сигнального каскада ОР является 5'-нуклеотидаза (5'-NT), гидролизующая аденозин-монофосфат, в том числе, циклический. Морфин повышает активность 5'-NT в синапсоматах и нейронах мозга (Nicholson D. et al., 1991; Sweeney M. et al., 1987). 5'-NT мозга обладает противострессовым, антиконвульсивным, седативным, антиноцицептивным эффектами, служит маркером активного синаптогенеза, повышает способность животных к обучению сложным инструментальным реакциям. Не менее важную роль играет 5'-NT в иммунных клетках: активация всех Т-хелперов сопровождается повышением активности 5'-NT, а дефицит 5'-NT приводит к усилению апоптоза, гиперпродукции провоспалительных цитокинов, супероксида, к повышенной дегрануляции нейтрофилов. В совокупности с другой нуклеотидазой — нуклеозид-трифосфат-дифосфогидролазой (NTDP) — 5'-NT служит маркером Т-регуляторной (Трег) субпопуляции Т-хелперов, которой принадлежит ключевая роль в предупреждении чрезмерных воспалительных и аутоиммунных реакций. Утрата 5'-NT на фоне высокой активности NTDP способствует переходу Трег клеток в противоположную по функциям субпопуляцию Тх17 клеток, обладающую высоким патогенным потенциалом. Эффекты стимуляции ОР на указанные нуклеотидазы иммунных клеток не исследованы. Нами проведено цитохимическое изучение активности 5'-NT и NTDP лимфоцитов и реакции этих ферментов в ответ на стимуляцию ОР лимфоцитов *in vitro* морфином и тетрагидроизохинолиновыми алкалоидами (ТИХ), продуктами конъюгации дофамина с метаболитами этанола, у 24 здоро-

вых лиц, у больных алкогольной (35 чел.) и наркотической (84 чел.) зависимостями без клинически выраженных воспалительных заболеваний и у 38 больных алкоголь-индуцированными заболеваниями печени. Обнаружено, что в лимфоцитах здоровых лиц и морфин и ТИХ-алкалоиды вызывают одинаковую активацию 5'-NT (в среднем 175±11% от уровня лимфоцитов, инкубированных в отсутствие алкалоидов); у больных алкогольной зависимостью снижена реакция 5'-NT на ТИХ-алкалоиды (141±12%, p<0,05), а у больных наркотической зависимостью — на морфин (109±15%, p<0,001). У больных АЗП снижена активация 5'-NT в ответ на оба алкалоида (на морфин — 110±14%, p<0,001, на ТИХ — 144±9%, p=0,05). В отличие от 5'-NT, активация NTDP в ответ на алкалоиды в лимфоцитах больных практически не снижается или даже возрастает, что приводит к резкому сдвигу индекса Тх17/Трег в сторону Тх17 клеток, способных вызвать аномально сильную воспалительную реакцию в ответ на постоянно присутствующие в организме условно патогенные микроорганизмы и их продукты, например, на липополисахариды клеточных стенок Грам-отрицательных бактерий, на умеренное повышение уровня окисленных липопротеинов низкой плотности или на собственные антигены организма. Характерной особенностью воспаления Тх17-типа является повышенная эффекторная роль полинуклеарных лейкоцитов, в отличие от более распространенного Тх1-типа воспаления, где главными эффекторами служат мононуклеары. Это согласуется с достоверной корреляцией у больных АЗП повышенного индекса Тх17/Трег с дефицитом мононуклеаров (r=0,55, p<0,01), с гиперпродукцией нейтрофилов, особенно нейтрофилов с токсогенной зернистостью (r=0,74, p<0,001). На свою очередь количество токсогенных полинуклеаров достоверно коррелирует с выраженностью энцефалопатии у больных АЗП (r=0,35, p<0,050). Последнее обстоятельство, вероятно, обусловлено экзоцитозом из стимулированных интерлейкином-8 (продуктом Тх17 клеток) нейтрофилов третичных гранул (токсогенная зернистость рассматривается как результат слияния гранул, предшествующий их излиянию из клетки), содержащих аргиназу, матриксные металлопротеиназы и триптофан-катаболизирующий фермент индол-амин-2,3-диоксигеназу (ИДО). Аргиназа ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов, металлопротеиназы повышают проницаемость гематоэнцефалического барьера, а ИДО переключает метаболизм триптофана с синтеза серотонина на продукцию кинуренинов, легко проникающих в мозг. Среди кинуренинов содержится много нейротоксических веществ, вызывающих такие симптомы, как психозы, большая депрессия, нарушения познавательной деятельности, дисрегуляция нормального циркадного ритма.

Морфофункциональные характеристики орексинергической системы гипоталамуса крыс линии *Lewis* при при адаптивном переносном экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите как модели рассеянного склероза

Перекрест С.В., Штейнцвайг А.Д., Новикова Н.С.

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

Известно, что орексинины, недавно открытые нейропептиды, продуцируемые небольшой популяцией гипоталамических нейронов, вовлекаются в регуляцию различных вегетативных функций организма, включая центральные механизмы нейроиммунных взаимодействий и формирование продромального синдрома. Дисфункция орексинергической системы характерна для многих нейродегенеративных заболеваний, в том числе аутоиммунной при-

роды. Проблема участия орексин-содержащих нейронов в патогенезе рассеянного склероза (РС) до сих пор малоизученна и данные по этому вопросу противоречивы.

Целью настоящего исследования было изучение морфофункциональных характеристик орексинергической системы гипоталамуса крыс линии *Lewis* при адаптивном переносном экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите (апЭАЭ), как модели РС.

Исследование иммунореактивности орексин-содержащих нейронов гипоталамуса показало, что у крыс на четвертые сутки после индукции апЭАЭ количество орексин-позитивных клеток на срезах мозга всех исследованных уровней, кроме 29 (25—32 уровень, по атласу Swanson L.W., 2004), снижено по сравнению с их числом у здоровых животных в среднем на 50%, что свидетельствует о повышенной утилизации орексина в этих нейронах. Анализ содержания мРНК препроорексина в клетках гипоталамуса методом количественной ОТ-ПЦР позволил выявить увеличение (на 11%) уровня экспрессии этого гена у больных животных по сравнению с интактными ($0,730 \pm 0,006$ vs $0,651 \pm 0,005$, $p < 0,05$), что косвенно говорит об увеличении синтеза данного нейромедиатора.

На основе полученных результатов можно заключить, что при индукции апЭАЭ происходит изменение баланса синтеза и потребления орексина в клетках гипоталамуса в сторону утилизации данного нейропептида, что проявляется в одновременном увеличении уровня экспрессии гена препроорексина и снижении иммунореактивности орексин-содержащих нейронов. Таким образом, орексинергическая система гипоталамуса может вовлекаться в центральные механизмы формирования ответных реакций ЦНС на индукцию апЭАЭ, что может быть значимо для понимания патогенетических процессов при РС.

Работа выполнена при поддержке и на базе Института нейробиологии им. М. Планка (Мартинсрид, Германия), на моделях, предоставленных др. Н. Каваками и проф. Х. Векерле.

Участие интерлейкина-1 β в системной организации деятельности головного мозга при стрессорных нагрузках

Перцов С.С.

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

Цитокины — эндогенные полипептидные медиаторы межклеточных взаимодействий, которые обеспечивают поддержание клеточного и тканевого гомеостаза, способствуют формированию защитных реакций организма при воздействии чужеродных факторов и нарушении целостности тканей (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008). Имеющиеся научные данные указывают на активное вовлечение цитокинов и, в частности, интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) в реализацию стрессорного ответа у млекопитающих. В наших предыдущих экспериментах было показано, что введение ИЛ-1 β крысам приводит к реорганизации механизмов эмоциональной оценки отрицательных эмоциогенных факторов (Перцов С.С. с соавт., 2009), предупреждает патологические изменения внутренних органов у животных при стрессорных воздействиях (Иванова Е.А. с соавт., 2009; Перцов С.С. с соавт., 2010). Однако роль ИЛ-1 β в нейроиммунных взаимодействиях у млекопитающих с различными характеристиками поведения и соответственно с разной устойчивостью к стрессу остается мало изученной.

Целью исследований, проводимых в лаборатории системных механизмов эмоционального стресса НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, было вы-

яснение центральных механизмов вовлечения ИЛ-1 β в системную организацию функций мозга у поведенчески пассивных и активных крыс при стрессорных нагрузках.

Выявлено, что ИЛ-1 β при микроионофоретическом подведении к нервным клеткам эмоциогенных структур головного мозга животных оказывает модулирующее воздействие на импульсную активность нейронов (Мещеряков А.Ф., 2010, 2011). Установлено, что отрицательное эмоциогенное воздействие на модели электростимуляции вентромедиального гипоталамуса у животных сопровождается преимущественно повышением чувствительности нервных клеток мозга к ИЛ-1 β . Получены новые данные о характере взаимодействия ИЛ-1 β с одним из нейротрансмиттеров и медиаторов стрессорного ответа норадреналином на нейронах переднемедиальных отделов поясной коры. При отрицательном эмоциогенном воздействии у крыс обнаружено выраженное увеличение числа тормозных реакций корковых нейронов на микроионофоретическое подведение ИЛ-1 β после подведения норадреналина.

Обнаружено, что ИЛ-1 β играет важную роль в нейромедиаторной интеграции отрицательных эмоциональных состояний. Продемонстрировано, что как во время, так и после иммобилизации с электрокожным раздражением, поведенчески активные крысы характеризуются более значимой активацией норадренергических процессов в дорсальном гиппокампе по сравнению с пассивными особями (Умрюхин А.Е. с соавт., 2007; Чекмарева Н.Ю. с соавт., 2011). ИЛ-1 β при внутрибрюшинном введении оказывал стимулирующее действие на высвобождение норадреналина в дорсальном гиппокампе активных крыс во время стресса, но предупреждал повышение уровня нейротрансмиттера в постстрессорный период. Данный эффект может иметь значение для предотвращения негативных последствий стрессорной нагрузки, многие из которых формируются именно после окончания стресса.

Установлено, что ИЛ-1 β вовлечен в регуляцию соотношения окислительных и антиоксидантных процессов в гипоталамусе, сенсомоторной коре и миндалине крыс при стрессорных нагрузках (Перцов С.С. с соавт., 2009, 2011; Калиниченко Л.С. с соавт., 2012). Внутрибрюшинное введение цитокина оказывало модулирующее влияние на активность антиоксидантных ферментов — глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и Cu/Zn-супероксиддисмутазы — с последующим изменением окислительного статуса тканей головного мозга животных. Выявлено, что ИЛ-1 β предупреждает постстрессорную активацию свободнорадикальных процессов и изменения антиоксидантной защиты в сенсомоторной коре поведенчески пассивных особей.

Представленные данные демонстрируют специфику центральных нейрохимических и нейрофизиологических механизмов, опосредующих участие ИЛ-1 β в системной организации деятельности головного мозга у поведенчески пассивных и активных животных с разной прогностической устойчивостью к однотипным стрессорным воздействиям.

Критерии развития тяжелого сепсиса при острых отравлениях азалептином

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

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

Целью исследования было определение критериев развития тяжелого сепсиса при критических состояниях, вызванных отравлением нейролептиками. Нейролептики (азалептин) вызывают тяжелое первичное поражение ЦНС с разви-

тием комы, глубина которой находится в прямой зависимости от времени экспозиции ксенобиотика. Обследовано 27 больных с острым отравлением азалеппином (средний возраст $44,5 \pm 5,7$ года) тяжелой степени, поступивших в центр острых отравлений ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. Время экспозиции яда — от 4 до 24 ч. В зависимости от исхода заболевания все пострадавшие были разделены на 2 группы: выжившие (15 чел.) и умершие (12 чел.). 12 пациентов умерли в соматогенной фазе отравления с клиническими признаками полиорганной недостаточности и тяжелого сепсиса. Уровень сознания определяли по шкале комы Глазго. Исследовали содержание белка S100, ИЛ-6 и ИЛ-8 в сыворотке крови при поступлении пациентов в стационар, через 1, 3 и 5 сут. после инцидента.

Содержание белка S100 у больных с летальным исходом при поступлении в стационар (55 ± 12 нг/л) было достоверно ниже, чем у выживших больных (102 ± 14 нг/л), причем его содержание находилось в обратной зависимости от времени экспозиции яда ($r = -0,56$). Начиная с 3 суток, достоверных различий по уровню S100 между группами не наблюдалось. Отмечалось резкое повышение уровня ИЛ-6 в крови больных обеих групп, при отрицательной корреляционной зависимости ИЛ-6 от времени экспозиции нейрореплика ($r = -0,59$). Начиная с 1 суток, уровень цитокина в группе выживших снижался до значений нормы, тогда как у умерших резко возрастал и сохранялся высоким вплоть до 5 суток. Содержание ИЛ-8 при поступлении у пациентов обеих групп было одинаково высоким, при этом у больных с летальным исходом уровень цитокина оставался стабильно высоким ($p < 0,05$) до 5 суток после инцидента, тогда как у выживших пациентов к 3 суткам наблюдалась нормализация содержания ИЛ-8.

Вероятно, сниженная продукция маркеров повреждения мозга и медиаторов воспаления в 1 сутки у умерших больных связана с угнетением центральных регуляторных механизмов воспаления, в том числе внутриклеточных ферментных систем, на фоне воздействия ксенобиотика. У пациентов этой группы к 3 суткам наблюдения при проведении детоксикационной терапии уровень продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8) повышался. Динамика полученных данных позволяет использовать эти показатели в прогнозе развития сепсиса и тяжелого сепсиса у пациентов с острыми отравлениями нейрорепликами.

Динамика изменений синаптического аппарата скелетных мышц при миастении

Поздняков О.М., Бабакова Л.Л.

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

Миастения — аутоиммунное заболевание, обусловленное появлением антител к никотиновым ацетилхолинорецепторам (АХР) или — реже — к мышечной специфической тирозинкиназе (МСТК). В результате нарушается функционирование нервно-мышечных синапсов (НМС) и возникают главные симптомы миастении: мышечная слабость и патологическая утомляемость.

В ходе диагностических биопсий больных миастенией исследовали ультраструктуру синаптической зоны длинной ладонной и дельтовидной мышц. Большой биопсийный материал, взятый на различных сроках заболевания, позволил проследить динамику изменения в нервно-мышечных синапсах, начиная с самых ранних (самый маленький срок — 4 недели от появления первых симптомов миастении).

Как известно, нервно-мышечный синапс включает три клеточных элемента: немиелинизованную терминаль аксона, шванновскую клетку (ШК) и специализированную область мышечного волокна, так называемую «подшву». Постсинаптическая мембрана, отделенная от терминали аксона (ТА) синаптической щелью, образует глубокие синаптические складки, на вершинах которых располагаются АХР. Синапс, как правило, включает несколько ТА.

Начальные изменения в НМС при миастении заключаются в локальной деструкции пре- и постсинаптической мембраны. Далее деструктивные изменения распространяются на область «подшвы» занимаемой синаптическими складками и ТА. При этом отростки ШК продолжают прикрывать ТА со стороны противоположной мышечному волокну. В конечном итоге происходит полное разрушение синаптической области и денервация мышечного волокна. О последнем также свидетельствует обнаружение центральных ядер в мышечных волокнах.

Процесс деструкции НМС сменяется регенеративным процессом, в результате которого происходит образование «миастенического» синапса. Новый синапс формируется в зоне разрушенного. При этом происходит ее расширение. Синаптические складки новообразованного НМС нерегулярные, электронноплотные утолщения на вершинах синаптических складок, соответствующие расположению АХР, выражены слабее, чем в нормальных синапсах, ширина синаптической щели неравномерна. Источником реиннервации мышечных волокон могут служить как собственные нервные окончания, так и терминальные ветвления нервных волокон, иннервирующих соседние мышечные волокна. При этом важную роль играют ШК. В мышцах больных миастенией обнаруживаются «группировки» мышечных волокон, свидетельствующие о том, что в ходе денервационно-реиннервационного процесса часть мотонейронов передних рогов спинного мозга, иннервирующих скелетные мышцы, погибает.

Из данных литературы последних лет известно, что имеются особенности в клиническом течении больных миастенией, возникающей в результате повреждения аутоантителами к АХР и МСТК. Вместе с тем, не возникает сомнения, что «миастенический» нервно-мышечный синапс является результатом деструктивно-регенеративного (денервационно-реиннервационного) процесса. Ремиттирующее течение заболевания можно объяснить преобладанием того или иного из них в данный момент. При этом нельзя исключить, что описанные изменения в синаптическом аппарате скелетных мышц могут повторяться.

Синдром рассеянного склероза при нейроинфекциях у детей

Скрипченко Н.В., Иванова Г.П., Трофимова Т.Н., Комацев В.Н.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России», Санкт-Петербург, Россия

Многолетний опыт отдела нейроинфекций НИИ детских инфекций свидетельствует о том, что нередко «под маской» рассеянного склероза (РС) могут протекать некоторые бактериальные и вирусные нейроинфекции, при которых, также как и при РС, имеет место «диссеминация симптомов в месте и времени» и характерные клинико-лабораторные нарушения, однако связаны они с текущим диссеминированным лейкоэнцефалитом.

Целью данного исследования было определение клинико-неврологических и лучевых проявлений синдрома РС при нейроинфекциях у детей. Под наблюдением находилось 48 детей в возрасте от 5 до 18 лет, поступивших в отделение нейроинфекций с диагнозом: *энцефалит*. Среди пациентов преобладали девочки (до 72%). Всем детям проводилась этиологическая верификация методами ИФА, ПЦР и иммуноцитохимии с исследованием ЦСЖ, сыворотки крови и лимфоцитарной взвеси. МРТ головного и/или спинного мозга осуществлялась с использованием стандартных импульсных последовательностей (исследование проводилось д.м.н. профессором Т.Н. Трофимовой).

В ходе исследования выявлено, что в этиологии заболевания у 29,2% пациентов определялась боррелиозная инфекция, у 70,8% — герпесвирусная (вирусы герпеса 1—2 типа, 4- 5- и 6-го типов). У 87,5% больных с герпесвирусной этиологией заболевания регистрировались микстовые варианты герпесвирусов. У всех детей определялась диссеминированная очаговая симптоматика, что служило основанием постановки рабочего диагноза «Диссеминированный энцефалит». Клиническая картина заболевания у детей характеризовалась развитием неврологической симптоматики, нарастающей в течение от 2 до 15 дней. На момент первичной госпитализации у 60,4% пациентов данное заболевание было первичным, у остальных больных являлось 2 или 3 рецидивом. У большинства детей (81,3%) отсутствовал общеинфекционный синдром. Общемозговая симптоматика определялась в половине случаев. Нарушение сознания было нехарактерно и имело место лишь у 16,7% пациентов. Анализ показал, что наиболее частыми неврологическими симптомами были пирамидные (100%), мозжечковые расстройства (83,3%) и нарушения функции черепных нервов (79,1%). При поступлении степень выраженности неврологического дефицита колебалась от 5 до 9 баллов по шкале EDSS. МР картина характеризовалась острой и хронической демиелинизацией. В большинстве случаев определялось многоочаговое поражение головного, а у 18,6% — головного и спинного мозга. Одиночный очаг выявлялся у 12,5% детей. Характерным являлась локализация очагов в задней черепной ямке, встречавшаяся у 87,5% больных, в стволовых структурах — в 79,1%, в белом веществе полушарий — в 58,3% и в мозолистом теле — в 43,8% случаев. Типичным для боррелиозной этиологии энцефалита было симметричное обширное поражение белого вещества головного мозга. Однако нередко, у 45,8% детей, было отмечено появление очагов в базальных ганглиях. Наличие диссеминации по ЦНС очагов демиелинизации, схожих с характерными очагами при РС, и причинно-значимого инфекционного фактора, было основанием для определения синдрома РС при диссеминированном энцефалите у детей. В 65% случаев заболевание имело острое течение с нарастанием симптомов в течение 3—14 дней с последующим полным обратным регрессом в течение 1—2 мес. У 25% детей диссеминированный энцефалит имел подострое течение, характеризовавшееся повторными рецидивами или непрерывным прогрессированием длительностью от 2 недель до 6 мес. с обратным частичным или полным регрессом в течение 6—12 мес. У 5 пациентов (10%) имело место хроническое течение с повторными рецидивами или непрерывным прогрессированием длительностью более 6 мес. с последующей стабилизацией, частичным или полным регрессом. Следует отметить, что из 14 пациентов с боррелиозной этиологией заболевания 2 ребенка имели подострое и 2 — хроническое течение, а

остальные 10 чел. — острое течение. Всем пациентам проводилось противовирусное или антибактериальное лечение, зависящее от этиологии заболевания. При боррелиозной инфекции применялись цефалоспорины 3 поколения (цефобид, цефтриаксон) и доксицилин, при герпесвирусной инфекции — зовиракс, фамвир, ганцикловир, рибавирин. Всем пациентам назначалась пульс-терапия гормонами в течение 3 дней, при подостром и хроническом течении — дополнительно проводился плазмаферез №3 через день, вводились внутривенные иммуноглобулины №3 (габриглобин), цитокины (ронколейкин). Независимо от этиологии возбудителя применялись интерфероны (виферон, интераль), индукторы интерферона (анаферон детский), нейровитамины, по показаниям — нестероидные противовоспалительные средства (ибупрофен). На фоне терапии у всех пациентов отмечалась положительная динамика, при этом у 25% детей (n=12) — полное клиническое выздоровление, из них — 6 чел. с энцефалитом боррелиозной этиологии, у 51,9% — формирование клинического резидуального дефицита от 1,5 до 2,5 баллов по шкале EDSS на фоне умеренных глиозно-атрофических изменений на МРТ (из них 6 чел. с энцефалитом боррелиозной этиологии), а у 27,1% — повторные рецидивы (2 чел. — с энцефалитом боррелиозной этиологии). Таким образом, клещевая боррелиозная и герпесвирусная инфекции имеют ключевое значение в развитии синдрома РС при диссеминированных энцефалитах у детей. Это является основанием обязательной дифференциальной диагностики РС с диссеминированным энцефалитом и прицельный поиск инфекционных агентов боррелиозной и герпесвирусной природы при синдроме рассеянного склероза у детей. Выявление этиологического фактора и своевременная адекватная этиотропная и патогенетическая терапия позволяют добиться благоприятного исхода заболевания.

Поражение головного мозга при герпесвирусных инфекциях у детей

Скрипченко Н.В.¹, Лобзин Ю.В.¹, Иванова Г.П.¹, Иванова М.В.¹, Команцев В.Н.¹, Мурина Е.А.¹, Алексеева Л.А.¹, Пальчик А.Б.², Скрипченко Е.Ю.²

¹ ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства России»

² ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет МЗиСР России, Санкт-Петербург, Россия

Распространенность герпесвирусов среди населения достигает 60—95%. Герпесвирусы отличаются нейротропностью, способностью к длительной персистенции, в том числе в клетках глии и чувствительных ганглиев, а также в иммунокомпетентных клетках, что создает предпосылки для поражения вещества головного мозга.

Цель исследования: установить роль различных типов вирусов герпеса в развитии клинико-лучевой картины течения и исходов энцефалитов (Э) у детей.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 132 ребенка с Э, вызванными различными типами вирусов герпеса в остром периоде и в катамнезе в течение 1—8 лет. Этиологическая диагностика осуществлялась методами ИФА, ПЦР, иммуноцитохимии с исследованием ЦСЖ и крови на вирусы герпеса 1—2, 3-, 4-, 5- и 6-го типов. Лучевое обследование включало МРТ головного и/или спинного мозга на томографах 1,5 или 3 Тесла с применением импульсных последовательностей: SE ИП

(T1-ВИ, T2-ВИ, FLAIR-ИП, DWI ИП). Диагностика поражения белого вещества проводилась, как на основании очаговых изменений по данным МРТ, так и по результатам исследования вызванных потенциалов (ВП): соматосенсорных (ССВП), акустических стволовых (АСВП), зрительных (ЗВП) и когнитивных. Для оценки выраженности демиелинизирующего процесса проводилось количественное определение содержания основного белка миелина (ОБМ) в ЦСЖ методом ИФА с использованием тест-системы Beckman Coulter Company (США). Полученные результаты. Проведен клинико-лучевой мониторинг 132 детей с Э, в этиологии которых была установлена роль различных типов вирусов герпеса. Возраст детей составил от 3 мес. до 18 лет, но в 82,9% был старше 3 лет.

В зависимости от длительности нарастания симптомов было диагностировано острое — в 55%, затяжное — в 18,9% и хроническое течение Э у 31,1% детей. При остром течении наблюдалось быстрое нарастание симптоматики в течение $7,0 \pm 3,3$ суток. У 84,8% детей отмечались общемозговые нарушения, а у 78,8% — общеинфекционный синдром. В неврологическом статусе преобладали мозжечковые нарушения (90,9%) и в половине случаев выявлялись пирамидные расстройства различной степени выраженности, а у 15,1% больных — судорожный синдром. У 60,6% детей отсутствовали изменения на МРТ, но наблюдалось увеличение латентностей ответов при исследовании ССВП в 87,5%, АСВП — в 77,5%, ЗВП — в 12,5% случаев. Очаги на МРТ они имели неправильную форму, локализовались в субкортикальных отделах в 90%, в 50% — в области таламусов, а в 20% случаев отмечалось тотальное поражение белого вещества. У 1 больного выявлялись мелкие геморрагические очаги в субкортикальных отделах лобных долей на фоне диффузного изменения белого вещества. В этиологии в 63,6% имел значение вирус ветряной оспы (вирус варицелла застер — VVZ), реже в 12,1% — вирус простого герпеса 1—2 типа (ВПГ), у 15,3% — вирусы герпеса 4,5 или 6 типа и только у 9% — смешанная герпесвирусная этиология. Поскольку самыми распространенными являются Э, вызванные VVZ, проведено углубленное их изучение. Установлено, что при Э, вызванных VVZ, имело место преобладание мозжечковой формы заболевания, составляющей 93,9%, над церебральной. Мозжечковая форма Э у детей отличалась развитием мозжечковых и легких пирамидных нарушений, тогда как церебральная характеризовалась развитием судорожно-комагозного синдрома. Установлено, что при Э, вызванных VVZ, заболевание отличалось редкостью выявления изменений на МРТ (12,3%). Кроме того, изменения вызванных потенциалов наблюдалось у всех пациентов и характеризовалось преобладанием демиелинизирующих изменений стволовых структур при мозжечковой форме и нейрональных нарушений полушарий головного мозга при церебральной форме. Исходом мозжечковой формы было выздоровление в 100% случаев, а при церебральной — развитие эпилепсии в 50% и летального исхода у 25%. При Э герпесвирусной этиологии имело место повышение ОБМ в ЦСЖ выше 1 нг/мл отмечалось у 29,4% больных. В целом, при Э герпесвирусной этиологии исходом острого течения было полное восстановление неврологического статуса у 86,3% детей и регресс очаговых изменений на МРТ через 3—6 мес. Затяжное течение Э герпесвирусной этиологии характеризовалось более продолжительным периодом нарастания симптомов от 2 недель до 4 мес. (в среднем $38,5 \pm 19,5$ дней), который у 80% пациентов характеризовался повторными обострениями (от 1 до 3), реже наблюдалось постепенное развитие симптомати-

ки. Особенностью клинической картины было отсутствие общеинфекционных и общемозговых симптомов у 76% детей. Неврологическая картина характеризовалась пирамидными и мозжечковыми нарушениями и симптоматикой со стороны черепных нервов. Очаговые изменения на МРТ в 76% имели многоочаговый характер, но количество в 80% случаев не превышало 5, преобладала локализация в стволе, в полушариях и ножках мозжечка, в мозолистом теле. У 20% больных очаги локализовались в спинном мозге. При ВП отмечалось увеличение скоростей, а в 60% — снижение амплитуд ответов. В этиологии у 84% больных отмечалась смешанная герпесвирусная инфекция с участием как α -, так и γ - и бета-вирусов герпеса. В ЦСЖ наблюдалось повышение содержания ОБМ более 5,0 нг/мл в 80% случаях заболевания. Остаточный неврологический дефицит наблюдался в 40%, а частичный или полных регресс очагов на МРТ в течение 1—3 лет. При хроническом течении Э длительность нарастания неврологической симптоматики составила от 6 мес. до 4 лет (в среднем $2,8 \pm 0,6$ года). Преобладал рецидивирующее течение в 75,6%, реже наблюдался постепенный вариант развития симптомов. В 92,7% случаев отмечалось «стертое» развитие клинической картины заболевания в начале заболевания. Среди симптомов преобладали расстройства чувствительности и нарушения стороны 2 пары черепных нервов. На МРТ определялась большая площадь поражения белого вещества многоочагового или диффузно-сливного характера с вовлечением, как в головного, так и спинного мозга в 92,6% случаев. Изменения со стороны ВП во всех случаях характеризовались увеличением латентностей ответов и снижением амплитуд. В ЦСЖ определялось высокое содержание ОБМ, более 9,0 нг/мл у большинства детей. В этиологии была установлена смешанная герпесвирусная инфекция с участием вирусов герпеса 4 и 6 типов в 92,7% случаях заболевания. В исходе в 65,9% случаев отмечалась стабилизация клинико-лучевой картины при наличии умеренного неврологического дефицита, у 34,1% детей был диагностирован рассеянный склероз. Таким образом, герпесвирусы являются самой частой причиной развития энцефалитов у детей. Особенности клинических проявлений, лучевой картины изменений вещества головного мозга и характер нарушений вызванных потенциалов при энцефалитах у детей определяется типом вирусов герпеса, вызвавшим заболевание. При этом, если для моноинфекции с участием α -герпесвирусов (VVZ и ВПГ) более характерно развитие острого течения заболевания, то для смешанной герпетической инфекции при участии бета- и γ -герпесвирусов — затяжное или хроническое течение инфекции с исходом в рассеянный склероз у 1/3 больных.

Информационная роль белково-пептидных комплексов в нейроиммунных механизмах регуляции гомеостаза и поведения в норме и патологии

Толтыго С.М., Певцова Е.И., Котов А.В.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАМН, Москва, Россия

Изучение молекулярных основ центрально-периферических механизмов формирования и реализации генетически детерминированного и индивидуально приобретенного опыта у животных, том числе и реализации, возникших на его основе патологических влечений (на модели экспериментального алкоголизма у животных), а также процессов гомеостатической саморегуляции неко-

торых физиологических функций, дестабилизация которых приводит к возникновению устойчивых форм патологии, является одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений современной медико-биологической науки.

Тесные взаимоотношения между нервной, иммунной и эндокринной системами в регуляции физиологических функций общепризнаны. В последние годы стало очевидным, что иммунная система играет значительную роль в механизмах обучения, памяти и нервной пластичности. В связи с этим, поиск и идентификация факторов сопряжения нервных и иммунных процессов в механизмах целенаправленного поведения и регуляции гомеостаза в ходе индивидуального онтогенеза представляются актуальными.

Получены приоритетные данные о центрально-периферических нейроиммунных механизмах участия свободных и связанных с функционально различными белками (транспортный белок — сывороточный альбумин, нейроспецифический белок S100b) вазоактивных и опиоидных пептидов — ангиотензинов (А-II, А-III, А-IV и А-II₁₋₇) и β-эндорфина в контроле врожденных и приобретенных (включая патологические) форм целенаправленного поведения, а также показателей гемодинамики. Представленные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют в пользу разрабатываемой нами концепции о специфической информационной роли белково-пептидных комплексов (БПК), являющихся самостоятельным классом биорегуляторов, как молекулярных эпигенетических факторов, осуществляющих функциональное сопряжение нервных и иммунных механизмов системной интеграции физиологических функций. Эндогенные БПК вследствие особенностей их конформационной структуры являются потенциально иммуногенными и, гипотетически можно полагать, что они обеспечивают вовлечение иммунных механизмов в длительное поддержание определенных функциональных состояний и воспроизведения адекватных этим состояниям поведенческих навыков, являясь их своеобразными «энграммами». Эти БПК включают преимущественно в аутоиммунные процессы формирования, фиксации, реализации, трансформации модальности вновь приобретенных влечений и стабилизации метаболических изменений. Белки-носители при этом модулируют активность ангиотензинов в составе БПК, обеспечивая их дифференцированное включение в процессы регуляции функций метаболизма в норме, а также в ходе сопутствующих адаптационно-компенсаторных процессов, предшествующих развитию патологии, как на гомеостатическом, так и на поведенческом уровнях.

Работа поддержана РГНФ (проект №11-06-00847а).

Сравнительная оценка функциональной активности клеток иммунной системы у больных алкогольной зависимостью II стадии в фазах абстинентного синдрома и продолжительной ремиссии

Ульянова Л.И., Гамалея Н.Б., Ульянова М.А.

ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» МЗиСР России, Москва, Россия

Отрицательное влияние алкогольной интоксикации на иммунную систему лиц, злоупотребляющих алкоголем, является установленным фактом. Нарушения функции иммунной системы, вызванные длительным приемом алкоголя, приводят, в конечном итоге, к иммунодефицит-

ному состоянию. Несмотря на внимание, которое уделяется в нашей стране проблеме алкогольной зависимости, практически отсутствуют данные о влиянии продолжительной ремиссии на состояние иммунной системы у больных.

Цель работы: сравнительное исследование показателей клеточного иммунитета у больных алкогольной зависимостью II стадии в состоянии алкогольного абстинентного синдрома и в фазе стойкой и продолжительной ремиссии.

Материал и методы. Показатели клеточного иммунитета исследованы в двух группах больных алкогольной зависимостью II стадии — в состоянии алкогольного абстинентного синдрома (72 больных) и в фазе ремиссии в течение 3—5 лет (69 больных). Контролем служили 90 здоровых добровольцев. Исследование клеточного звена иммунитета включало: гематологический анализ крови, оценку пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов, активности НК-клеток, фагоцитов и популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов. Функциональную активность Т- и В-лимфоцитов определяли в модели реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) с использованием поликлональных митогенных лектинов ФГА (фитогемагглютинин), Кон А (конканавалин А), МЛ (митоген лаконоса) и ЛПС (липолисахарид). Функциональную активность натуральных киллеров (НК-клеток) оценивали по их мембранотоксическому действию на клетки-мишени опухолевой линии К-562, меченные ³Н-уридином. Фенотипирование клеток и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови определяли методом лазерной проточной цитометрии. Определение функциональной активности фагоцитов проводили методом хемилюминесценции фагоцитов с использованием зимозана и фобол-миристат-ацетата (ФМА). Результаты и выводы. У больных в состоянии алкогольного абстинентного синдрома (ААС) выявлены выраженные изменения гемограммы, соответствующие картине острого воспаления. Снижена по сравнению с группой здоровых функциональная активность Т- и В-лимфоцитов и наблюдаются количественные нарушения в соотношении иммунорегуляторных субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, что выражается достоверным снижением иммунорегуляторного коэффициента с доминированием CD8⁺ Т-лимфоцитов. При ААС достоверно увеличивается количество В-лимфоцитов (CD19⁺) и НК-клеток (CD3⁺16⁺56⁺), а также повышается их функциональная активность в сравнении со здоровыми лицами. Несмотря на снижение количества субпопуляций Т-клеток CD4⁺ и CD8⁺ у обследованных больных достоверно увеличено количество активированных CD3⁺DR⁺, CD8⁺DR⁺, CD4⁺DR⁺, NKDR⁺, CD8⁺25⁺, CD4⁺25⁺ и CD8⁺28⁺ клеток по сравнению с группой здоровых. При ААС достоверно увеличивается как спонтанная, так и индуцированная зимозаном и ФМА хемилюминесценция фагоцитов, и также достоверно снижается их поглотительная (фунгицидная) способность. Наблюдаемые изменения иммунитета у лиц, длительно употребляющих алкоголь в больших количествах, могут способствовать возникновению органной и системной патологии, а также снижению резистентности к туберкулезу и респираторным инфекциям. Длительное воздержание от приема алкоголя (ремиссия в течение 3—5 лет) у больных алкоголизмом II стадии приводит к полному восстановлению функциональной возможности иммунных клеток.

Оценка изменений концентрации основного белка миелина в церебро-спинальной жидкости у больных с осложненной травмой шейного отдела позвоночника и спинного мозга

Ульянов В.Ю., Бажанов С.П., Шуковский В.В., Норкин И.А.

ФГБУ «СарНИИТО» МЗУСР РФ, Саратов, Россия

Семейство основных белков миелина (myelin basic proteins, MBPs) составляет около 35% всех белков миелина центральной нервной системы. Ген MBPs экспрессируется олигодендроглиоцитами, различными клетками иммунной и нервной системы. MBPs является основным компонентом миелиновой мембраны, обеспечивающим стабилизацию компактной структуры major dense line. Миелин человека содержит 3 изоформы основного белка. Обновление миелина происходит медленнее, чем восстановление других клеточных мембран и проявляется двухфазной кинетикой деградации: относительно быстрая фаза деградации MBPs длится 2–3 недели, данных о продолжительности более медленной фазы нет [Chignola R. et al., 2000; Narauz G. et al., 2004].

Цель: изучить динамику концентраций MBPs в церебро-спинальной жидкости у больных в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга.

Материал и методы. Объект исследования составили 30 больных с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника и спинного мозга. Иммунологические исследования проводились в динамике на 1–4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки с момента получения травмы. Материалом для исследования были образцы спинномозговой жидкости, полученные по стандартной методике. Для определения MBPs использовали набор для иммуноферментного анализа DSL-10-58300 MBP ELISA. Контрольные значения уровня MBPs в церебро-спинальной жидкости составили $0,31 \pm 0,02$ нг/мл.

Результаты. В группе больных с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника и спинного мозга на 1–4-е сутки с момента получения травмы по сравнению с контрольными данными отмечали статистически достоверное увеличение концентрации MBPs до $3,86 \pm 0,25$ нг/мл в церебро-спинальной жидкости ($p < 0,001$), что связано с первым пиком процессов демиелинизации нервных структур, определяемым действием травмирующего фактора. Достоверное по сравнению с контрольными данными повышение уровня MBPs до $4,14 \pm 0,27$ нг/мл отмечали также на 7-е сутки посттравматического периода ($p < 0,001$), что было следствием продолжения процессов демиелинизации и активации аутоиммунных механизмов вторичного повреждения вещества спинного мозга. Второй пик концентраций MBPs до $4,59 \pm 0,20$ нг/мл в церебро-спинальной жидкости отмечали на 14-е сутки после травмы ($p < 0,001$), что было связано с появлением в системном кровотоке циркулирующих аутоантител, оказывающих прямое цитотоксическое действие на клетки спинного мозга. Описанные изменения соответствовали первой — быстрой фазе деградации миелина. В сроки на 21-е и 30-е сутки с момента травмы спинного мозга по сравнению с контрольными значениями отмечали достоверное уменьшение содержания MBPs в церебро-спинальной жидкости до $4,24 \pm 0,21$ нг/мл и $2,84 \pm 0,16$ нг/мл соответственно, что, вероятно, было связано с возникновением второй — медленной волны демиелинизации, поддерживаемой аутоиммунными процессами, происходящими в организме пострадавших в ответ на повреждение спинного мозга.

Выводы: у больных с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника процессы демиелинизации носят двухфазный характер и определяются выраженностью травматического воздействия и аутоиммунного поражения вещества спинного мозга.

Метаболическая активность легких при моделировании нейроиммунной патологии у крыс

Уракова М.А., Брындина И.Г.

ГБОУ ВПО Ижевская государственная медицинская академия, Ижевск, Россия

Появившаяся в последние десятилетия концепция об единой системе нейроиммунной регуляции позволила по-новому рассмотреть взаимосвязь нервных и иммунных механизмов в формировании дисрегуляторной патологии висцеральных функций, в том числе системы дыхания (Крыжановский Г.К., 1999). Было установлено, что в регуляции метаболических функций легких участвуют структуры центрального звена нейроиммуномодуляции, а именно — голубое пятно, гипоталамус, миндалина, гиппокамп, (Брындина И.Г., Лукина С.А., Тимофеева М.Р., Уракова М.А., Яковенко О.В. 1995–2011). Вместе с тем, влияние нейроиммунопатологических процессов, в развитии которых вовлечена ЦНС (рассеянный склероз — РС, антифосфолипидный синдром — АФС и др.) на систему дыхания, остается до конца не изученным.

Целью исследования стало изучение метаболических функций легких при экспериментальном моделировании антифосфолипидного синдрома и рассеянного склероза у крыс.

Эксперименты выполнены на 28 беспородных крысах массой 180–230 г. Для моделирования АФС животным подкожно вводили кардиолипидный антиген в суммарной дозе 0,2–0,4 мг на крысу через день в течение трех недель (H.Nomura, 1998) В качестве контроля данной группы использовали крыс, которым вводили изотонический раствор NaCl по той же схеме. Общепризнанной моделью РС у животных является моделирование экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ). ЭАЭ воспроизводили путем введения очищенного миелина головного мозга с полным адьювантом Фрейнда (Коновалов Г.В. и др., 1969; Осипова П.В., Житнухин Ю.Л., 1971). Спустя 3–4 недели у всех животных получали бронхо-альвеолярные смывы (БАС), в которых определяли содержание общих фосфолипидов, белка, измеряли поверхностное натяжение. Методом тонкослойной хроматографии определяли спектр фосфолипидов в сыворотке крови и бронхо-альвеолярных смывах. Помимо этого, оценивали содержание общей (ОЖ) и экстравакулярной жидкости (ЭЖ) в легких, кровенаполнение органа (Бобриков А.В., Сериков В.Б., 1984).

В ходе эксперимента установлено, что моделирование ЭАЭ у крыс сопровождалось уменьшением фосфолипидов БАС ($p < 0,05$), что приводило к ухудшению поверхностной активности легких на фоне увеличения ЭЖ и ОЖ органа ($p < 0,05$). Изучение спектра фосфолипидов плазмы крови у животных с АФС выявило увеличение в венозной крови («до легких») по сравнению с артериальной («после легких») доли лизофосфатидилхолина (ЛФХ) на 116% и фосфатидилсерина (ФС) на 400% ($p < 0,05$). Наблюдалось уменьшение концентрации фракций сфингомиелина (СМ) и фосфатидилинозитола (ФИ) на 42 и 52% соответственно ($p < 0,05$). При изучении фосфолипидного состава БАС было выявлено уменьшение фракции ФХ на 26% и увеличение доли ЛФХ на 400% по сравнению с контроль-

ными значениями ($p < 0,05$). Увеличивалось количество ЭЖ и ОЖ легких на фоне уменьшения кровенаполнения органа ($p < 0,05$).

Таким образом, моделирование нейроиммунной патологии головного мозга у крыс сопровождается существенными изменениями метаболических функций легких, проявляющимися в снижении синтеза фосфолипидов сурфактанта. Антифосфолипидный синдром у крыс проявляется в изменении фосфолипидного спектра бронхо-альвеолярных смывов и оттекающей от легких крови. Изменения водного баланса у животных с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом и антифосфолипидным синдромом характеризуются увеличением экстравазкулярной жидкости и уменьшением кровенаполнения легких.

Изменения молекулярных показателей и физической активности у животных с экспериментальной поствирусной усталостью

*Филатенкова Т.А., Дмитриенко Е.В.,
Фомичева Е.Е., Рыбакина Е.Г.*

ФГБУ «Научно-исследовательский Институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Последствия вирусной инфекции, как известно, могут быть более тяжелыми, чем само перенесенное заболевание. Еще более пагубным воздействием на организм может обладать повторная инфекция в условиях еще не восстановившихся функций иммунной системы.

Целью работы являлось изучение действия синтетической двуспиральной РНК — Поли И:Ц, как модели синдрома поствирусной усталости (СПХУ), на степень экспрессии генов ИЛ-1 β , ИЛ-10 в гипоталамусе, интерферона- α в гипоталамусе и селезенке крыс, а также физическую активность животных. В тесте «принудительное плавание» показано, что к 7-м суткам после введения препарата в опытной группе животных показатели физической активности снижались. Это снижение сохранялось и к 10-м суткам, после чего происходило их восстановление до исходного уровня. При повторном введении препарата Поли И:Ц, не наблюдалось снижения физической активности животных, а было отмечено увеличение этого показателя. Относительная степень экспрессии гена ИЛ-1 β в клетках гипоталамуса крыс значительно повышалась к 7-му дню после введения препарата Поли И:Ц. Сроки увеличения степени экспрессии гена ИЛ-10 — антагониста ИЛ-1 β , также позволяют сделать заключение о развитии заболевания на 7–10-е дни после инъекции. После повторной аппликации препарата Поли И:Ц проявления усталости и степень экспрессии обоих генов максимально увеличивается на 3-й день. На 14-е сутки выявлено повторное увеличение степени экспрессии генов этих цитокинов. Поли И:Ц является препаратом-интерфероногеном, поэтому увеличение степени экспрессии гена интерферона- α закономерно и косвенным образом свидетельствует о попадании препарата в клеточное окружение и об активации синтеза этого цитокина. Повторное введение препарата также вызывает усиление степени экспрессии гена интерферона- α в клетках гипоталамуса. В клетках селезенки, помимо повышения этого показателя в первые сроки, выявлено повторное, отсроченное повышение степени экспрессии интерферона- α на 14-й день. Полученные данные позволили заключить, что введение Поли И:Ц оказывает угнетающее действие на функции иммунной системы, вызы-

вает дестабилизирующие изменения в физическом состоянии животных. Повторная аппликация Поли И:Ц усугубляет изменения иммунной системы, несмотря на видимое повышение физической активности.

Нарушения нейроиммунных взаимодействий в экспериментальной модели поствирусной хронической усталости и их коррекция иммуномодулирующими препаратами

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

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины», Северо-Западное отделение РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Синдром поствирусной хронической усталости (СПХУ) является многофакторным заболеванием, этиология и патогенез которого остаются не ясными. Для исследования механизмов нарушения функций нейроэндокринной и иммунной систем при СПХУ и возможности их коррекции использована экспериментальная модель иммунологически индуцированной хронической усталости, вызванной внутрибрюшинным введением крысам синтетической двухцепочечной РНК — Поли И:Ц — в дозе 3 мг/кг массы тела. Показано, что однократная инъекция Поли И:Ц сопровождается нарушением функций ГГАКС, выявленном при использовании стандартных функциональных проб с внутрибрюшинным введением животным АКТГ или гидрокортизона (ГК), что проявилось значительным и длительным снижением уровня кортикостерона в крови, по сравнению с контрольными животными, получавшими только АКТГ или ГК. При инъекциях препаратов, обладающих иммуномодулирующей активностью: препарата нуклеотидной природы Дерината (Техномедсервис, Москва) или синтетического тетрапептида Эпиталона (НИИ биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН), до индукции СПХУ нарушений функций ГГАКС не выявлено. Обнаружено нормализующее действие препаратов Деринат и Эпиталон, восстанавливающих адекватную глюкокортикоидную реакцию на введение АКТГ в высокой дозе и ГК. Возможно, эти препараты воздействуют на регуляторные механизмы ГГАКС, нормализующие продукцию кортикотропин-релизинг гормона у животных, которым вводили Поли И:Ц. Цитотоксическая активность естественных киллерных клеток селезенки и пролиферативный ответ спленоцитов животных, индуцированных добавлением к ним ИЛ-1 β в сочетании с Конканавалином А, в период формирования у них хронической усталости были подавлены. Предварительные инъекции Дерината и Эпиталона оказывали стимулирующее действие как на пролиферативный ответ спленоцитов на действие Кон А и ИЛ-1 β , так и на цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки. По-видимому, оба использованных препарата реализуют свое действие с участием ИЛ-1 β , важнейшего медиатора нейроиммунных взаимодействий, усиливая проявление его биологической активности в отношении функций как нейроэндокринной, так и иммунной систем организма.

Таким образом, использование экспериментальной модели развития СПХУ позволяет заключить, что нарушения нейроиммунных взаимодействий при развитии этого заболевания реализуется как через изменение активности ГГАКС, так и на уровне изменения активности иммунокомпетентных клеток. Эти изменения могут быть скомпенсированы препаратами нуклеотидной или пептидной природы.

Роль лимфатической системы в реализации эффектов нервной и иммунной систем в норме и патологии

Хугаева В.К., Ардасенов А.В.

ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

Хорошо известна взаимосвязь нервной и иммунной систем в норме и патологии.

Однако степень их активации может зависеть от деятельности других органов и систем, в частности, от лимфатической системы (ЛС).

До недавнего времени ЛС рассматривали в качестве пассивной системы, работа которой определялась «факторами лимфотока».

ЛС, отражая работу различных органов и систем, одновременно координирует деятельность целостного организма, включая нейрориммунные процессы.

Комплексное прижизненное изучение микро- и макрогемодинамики, микролимфоциркуляции в норме, при ишемии мозга (окклюзия двух общих сонных артерий), воспалении кожи (УФ облучение всем спектром лучей) позволило получить данные свидетельствующие в пользу глобальной роли ЛС в исходе наиболее тяжелых заболеваний, вызывающих гибель организма.

Непосредственное действие нейропептидных нейромодуляторов опиоидной природы лей-энкефалина (ЛЭ), мет-энкефалина и их производных на различные структуры мозга не вызывают существенных изменений АД, скорости кровотока, в коре и пиальных микрососудах, частоты сокращений сердца при ишемии мозга. Гибель животных на протяжении первого часа ишемии мозга составила 13%, позже — увеличивается.

Другая картина возникает при стимуляции лимфотока в органах спланхической области с помощью лимфостимуляторов прямого действия, к которым относятся ЛЭ и его тирозинсодержащие аналоги. Внутривентрикулярное введение ЛЭ (40 мкг/кг) беспородным белым крысам-самцам массой 250—350 г в условиях наркоза (8% хлоралгидрат) с профилактической и лечебной целью через 15 мин. восстанавливает кровоток в коре мозга, а через 2,5 часа увеличивает на 70% по сравнению с исходным кровотоком до ишемии мозга. Все животные оставались живы.

Таким образом, активация ЛС значительно изменила прогноз ишемии мозга.

Сходные закономерности наблюдали в условиях воспаления кожи: стаз в микрососудах облученной кожи и подкожной жировой клетчатки, дегрануляция 95% тучных клеток, нарушения сосудистой проницаемости с развитием кровоизлияния из микрососудов.

Применение лимфостимулятора аналога ЛЭ позволило сохранить 50% тучных клеток от дегрануляции, вместо кровоизлияний имел место небольшой диапедез эритроцитов из микрососудов в ткань, кровоток увеличился на 20%.

Ячеистое повреждение ткани в форме стаза в микрососудах и дегрануляции тучных клеток наблюдались в зонах лишенных ЛС.

Активация лимфотока лимфостимуляторами вызывает активацию иммунной системы благодаря увеличению скорости выведения лимфоцитов и лимфопетидов из лимфатических узлов в кровоток.

Наличие ЛС в ткани становится залогом сохранения микроциркуляции в условиях патологии.

Взаимодействие опиоидных и нейромедиаторных систем в нейроиммуномодуляции: рецепторные механизмы

Чейдо М.А.

ФГБУ «НИИ физиологии СО РАМН» Новосибирск, Россия

На современном этапе развития психонейроиммунологии все более очевидна определяющая роль многокомпонентного нейротрансмиттерного механизма с включением и взаимодействием различных нейромедиаторных/нейромодуляторных систем. В связи с этим перспективным направлением является изучение рецепторно-специфических взаимоотношений между важнейшими опиоидергическими и нейромедиаторными системами мозга. В этом отношении заслуживают внимания мю, дельта, капша опиоидергические и серотонинергическая (5-НТ), дофаминергическая (DA) системы, значимость которых в иммуномодуляции показана. Более того, установлено, что дизрегуляция взаимодействия данных систем часто лежит в основе различных форм патологий ЦНС, сопровождающихся иммунной дисфункцией. Кроме того, многие фармакологические эффекты, в частности, мю-опиоидной системы реализуются через DA систему, а капша- и дельта-опиоидных систем осуществляются при участии 5-НТ системы. В опиоидергической иммуномодуляции важная роль принадлежит синтетическим пептидам, избирательно активирующим важнейшие типы опиоидных рецепторов (ОР) — мю (DAGO), дельта1 (DPDPE), дельта2 (DSLET) и капша (риморфин). Многочисленные собственные и литературные данные свидетельствуют об иммуносупрессирующем влиянии капша, дельта₂ и 5-НТ систем с участием рецепторов, присутствующих каждой из них. При изучении нейрорхимического обеспечения эффектов риморфина и DSLET (100 мкг/кг) на иммунную реакцию мышей линии СВА нами впервые была показана значимость в этом процессе 5-НТ_{1A}- и 5-НТ_{2A}-рецепторов, которые принимают участие в процессе нейроиммуномодуляции, патогенезе ряда состояний ЦНС, а также формировании различных типов поведения. Основанием для подобного вывода служит факт отсутствия иммунных эффектов исследуемых опиоидов на фоне селективной стимуляции пресинаптических (соматодендритные ауторецепторы ядра шва среднего мозга) 5-НТ_{1A}-рецепторов агонистом 8-ОН-DPAT (0,1 мг/кг), а также избирательной блокады постсинаптических 5-НТ_{1A}- и 5-НТ_{2A}-рецепторов, соответственно, WAY-100635 и кетансеринном в дозах 1 и 3 мг/кг. Вместе с тем сопоставление полученных результатов показало, что вклад обоих типов 5-НТ-рецепторов имеет дифференцированный характер и в большей степени определяется ауторецепторами и постсинаптическими рецепторами 5-НТ_{2A}-рецепторами.

Примечательно, что ключевым нейрорхимическим механизмом иммуностимулирующего эффекта, выявленного при активации мю- (DAGO) и дельта1- (DPDPE) ОР (100 мкг/кг) является DAергический. Веское основание считать, что в DAGO- и DPDPE-индуцированную иммуностимуляцию вовлекаются постсинаптические DA рецепторы D1- и D2-типов дали результаты нейрорфизиологических исследований — электролитическое разрушение терминальных зон nigростриатной (хвостатое ядро) и мезолимбической (прилежащее ядро) DA систем крыс линии Вистар. Кроме того, фармакологический сравнительный анализ влияния опиоидов на фоне избирательной блокады D1- и D2-рецепторов, соответственно, SCH-23390 и галоперидолом (1 мг/кг) показал неравноценное их участие в этом про-

цессе. Так, если повышение IgM-антителообразования под влиянием DAGO обеспечивается преимущественным включением D2-рецепторов, то в IgM- и IgG-иммунный ответ при активации дельта1-ОР более значимый вклад вносит другой тип DA рецепторов — D1.

Реакции орексинергических нейронов мозга и клеток надпочечников крыс на введение липополисахарида

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

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

Сравнительный анализ изменений динамики экспрессии генов рецепторов к орексину (*OXR1* и *OXR2*) в структурах мозга и надпочечниках после введения несептической и субсептической доз ЛПС, что позволило продемонстрировать различия паттерна их экспрессии на мембранах клеток этих органов. В структурах гипоталамуса установлено увеличение экспрессии гена преорексина (*PPO*) через 2 часа после в/в введения ЛПС в малой (25 мкг/кг) и в субсептической дозах (500 мкг/кг), однако уровень экспрессии этого гена в гипоталамических клетках достигает базовых значений через 4 часа после антигенного воздействия в обеих дозах. В других структурах ЦНС констатируется увеличение степени экспрессии генов обоих рецепторов в клетках среднего мозга и гена *OXR1* в клетках спинного мозга после введения малой дозы ЛПС. Наблюдаемое в норме повышение уровня экспрессии гена *OXR2* на мембранах клеток гипоталамуса в 15-00 отменяется при введении несептической и субсептической доз ЛПС в 11 чов. Экспрессия генов *PPO* и рецепторов к орексину — *OXR1* и *OXR2* — во всех исследованных структурах ЦНС через 6 часов после введения ЛПС (500 мкг/кг) не отличается от контрольных величин. Экспрессия гена *PPO* в клетках надпочечников крыс после в/в введения липополисахарида в обеих дозах изменяется в течение суток: с 13-00 до 17-00 синтез м-РНК гена *PPO* постепенно снижается ($0,0005 \pm 0,00017$ vs $8,66E-05 \pm 4,14E-05$, $p < 0,05$). Введение несептической дозы ЛПС приводит к снижению интенсивности экспрессии этого гена ($0,0005 \pm 0,00017$ vs $0,0001 \pm 5,39E-05$, $p < 0,05$) через 2 часа после инъекции. Повышение уровня экспрессии гена *OXR1* и снижение уровня экспрессии гена *OXR2* констатируется через 6 часов после в/в введения липополисахарида в субсептической дозе (500 мкг/кг). Продемонстрированные реакции орексинергической системы гипоталамуса, среднего, продолговатого и спинного мозга, а также надпочечников отражают изменение функциональной активности орексинергических клеток, локализованных в вышеперечисленных структурах, что указывает на их участие в механизмах реализации реакции мозга и надпочечников на ранних этапах формирования иммунного ответа.

Нейропротекторное действие антител к глутамату на модели ишемического повреждения префронтальной коры головного мозга крыс

Шакова Ф.М., Ветрилэ Л.А., Давыдова Т.В., Романова Г.А.
ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва, Россия

При ишемических и травматических повреждениях головного мозга одним из ключевых механизмов, приводящих к гибели нейронов, является нарушение глутаматергической нейротрансмиссии. Избыточная активация глутамата, основного возбуждающего нейротрансмиттера ЦНС, которая влечет за собой длительный приток ионов кальция в клетку,

оказывает нейротоксическое действие при ишемических повреждениях мозга. Ранее было показано усиленное образование аутоантител к глутамату (ГЛУ-АТ) у крыс с двусторонним ишемическим повреждением префронтальной коры головного мозга к 8-м суткам после операции. Возможно, одним из механизмов нейропротекции ГЛУ-АТ при ишемическом повреждении мозга может быть их способность снижать усиленную продукцию глутамата.

Целью данного исследования являлось изучение влияния ГЛУ-АТ при ишемическом повреждении префронтальной коры головного мозга на содержание нейромедиаторов в структурах мозга (префронтальная кора, гиппокамп, гипоталамус), связанных с когнитивными функциями, и сохранение выработанных до повреждения коры условных рефлексов пассивного избегания (УРПИ).

Работа была выполнена на 30 самцах беспородных крыс массой 200—220 г. Животные содержались в виварии при свободном доступе к пище и воде и 12 часовом световом режиме. Двусторонний фокальный ишемический инфаркт префронтальной коры головного мозга крыс, который является моделью, воспроизводящей наиболее близко клиническую картину ишемического инфаркта мозга, создавали методом фотохимического тромбоза. Операцию проводили под хлоралгидратным наркозом в дозе 300 мг/кг. Показатели латентного периода (ЛП) перехода крысы из светлого в темный отсек челночной камеры Биотест РК-5201 позволяют оценить сохранение выработанного до фототромбоза навыка. УРПИ считали выработанным, если ЛП составлял, не менее 300 с.

Содержание нейромедиаторных аминокислот (глутамата и аспартата) определяли в структурах мозга (префронтальной коре, гиппокампе, гипоталамусе) на 8-е сутки после операции методом ВЭЖХ с электрохимической детекцией согласно стандартной методике.

Статистическую обработку данных проводили компьютерной программой Statistica 6.0 с использованием однофакторного непараметрического дисперсионного анализа по Краскел—Уоллису с последующим внутригрупповым сравнением по U-критерию Манна—Уитни.

Экспериментальные животные были разделены на пять групп: 1-я (n=6) — интактные, 2-я (n=6) — ложнооперированные; 3-я (n=6) — крысы с двусторонним ишемическим инфарктом префронтальной коры головного мозга, которым однократно через 1 ч после операции вводили интраназально изотонический раствор в объеме 7 мкл; 4-я (n=6) — животные, которым однократно через 1 ч после операции вводили интраназально водный раствор ГЛУ-АТ в дозе 250 мкг/кг; 5-я (n=6) — животные, которым в качестве контроля вводили раствор кроличьего γ -глобулина от интактных животных по той же схеме и в той же дозе.

На 8-е сутки после фототромбоза у крыс с ишемическим повреждением головного мозга содержание глутамата увеличивалось в префронтальной коре ($p < 0,05$) и гиппокампе ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной ложнооперированной группой. Эти данные согласуются с ранее показанным увеличением уровня глутамата в сыворотке крови животных при очаговой ишемии коры головного мозга. У животных с фототромбозом, которым интраназально вводили ГЛУ-АТ, обнаружено снижение содержания глутамата в префронтальной коре на 8-е сутки после операции по сравнению с группой крыс, которым вводили изотонический раствор ($p < 0,05$). Содержание глутамата в гиппокампе у этих животных в эти же сроки снижалось, но не достигало уровня контроля. При проверке сохранения УРПИ на 8-е сутки после фототромбоза префронтальной коры показано значительное увеличение

ЛП рефлекса у животных, получавших интраназально через 1 ч после операции ГЛУ-АТ (250 мкг/кг) по сравнению с крысами с таким же повреждением коры и введением интраназально изотонического раствора, что свидетельствует о нейротропном действии ГЛУ-АТ на когнитивные функции при ишемии головного мозга.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено нормализующее действие ГЛУ-АТ на содержание возбуждающего нейромедиатора — глутаминовой кислоты у животных с очаговым ишемическим повреждением префронтальной коры. Интраназальное одноразовое введение ГЛУ-АТ через 1 ч после операции приводило к снижению содержания глутамата в префронтальной коре и гиппокампе и не влияло на содержание другой возбуждающей аминокислоты — аспартата в этих структурах в эти же сроки, что свидетельствует о специфическом влиянии ГЛУ-АТ на усиленную продукцию глутамата при ишемическом повреждении коры головного мозга, благодаря их способности снижать накопление глутамата и тем самым предотвращать гибель нейронов. Полученные данные позволяют объяснить полученные протективные эффекты ГЛУ-АТ при остром нарушении мозгового кровотока и когнитивных функций мозга. Представляет интерес дальнейшее исследование эффектов ГЛУ-АТ при нейродегенеративной патологии.

Клеточные и молекулярные механизмы развития стрессорной реакции и поствирусной хронической усталости в эксперименте

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

ФГБУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины» Северо-Западного отделения РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Нарушения нейроиммунных взаимодействий являются одним из основных механизмов развития дисфункций иммунной системы при тяжелом стрессе (дистрессе) и синдроме поствирусной хронической усталости (СПХУ) — многофакторного заболевания, этиология и патогенез которого, несмотря на проводимые в последние годы интенсивные исследования, не полностью раскрыты.

В представленной работе исследованы клеточно-молекулярные и сигнальные механизмы нейроиммунного взаимодействия, включая активность серотониновой системы, при экспериментальном стрессе и поствирусной усталости. Показано, что активность нейтральной сфингомиелиназы — ключевого фермента сфингомиелинового каскада — снижена в мембранной фракции P2 головного мозга экспериментальных животных как при стрессе, так и при СПХУ. В то же время цитотоксическая активность естественных клеток-киллеров селезенки крыс оставалась высокой при экспериментальной поствирусной усталости и была снижена после стрессорного воздействия, вызывающего супрессию гуморального иммунного ответа. В отличие от клинических данных, установлено, что выраженного снижения уровня циркулирующего кортикостерона в крови крыс с экспериментально индуцированной хронической усталостью не происходит. Наоборот, введение синтетической двунитчатой РНК (Поли И:Ц) — индуктора поствирусной усталости — вызывало повышение концентрации кортикостерона в крови. При использовании нагрузочных функциональных тестов — введения животным АКТГ и гидрокортизона — выявлено снижение чувствительности клеток надпочечников к АКТГ при индукции экспериментальной поствирусной усталости, что препятствует проявлению механизма отрицательной обратной связи — одного из основных меха-

низмов регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-адреноренальной системы. Показаны изменения активности серотонина в динамике развития СПХУ.

Таким образом, экспериментально обосновано представление о том, что механизмы нарушений взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем при стрессе и синдроме поствирусной хронической усталости не идентичны и являются результатом изменения уровня активности функций нейроэндокринной системы, активности иммунокомпетентных клеток и интенсивности трансдукции сигнала цитокинов по сфингомиелиновому пути в нервных клетках.

Экспресс-способ определения комплемент активирующей функции гетерофильных антител человека

*Шойбонов Б.Б.^{1,2,3,4}, Баронец В.Ю.^{2,3},
Осипов А.В.⁴, Панченко Л.Ф.^{1,3}*

¹ ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

² ФГБУ «НИИ нормальной физиологии им.П.К.Анохина» РАМН

³ ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» МЗиСР РФ

⁴ ФГБУН «ИБХ им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН, Москва, Россия

Цель: разработка экспресс-способа определения комплемент активирующей функции гетерофильных антител человека.

Материалы и методы. ММ-ЛП сыворотки или плазмы крови человека избирательно агрегировались в буфере, содержащем 15% поливинилпирролидон (ПВП) 12600±2700 («Синтвита», Россия), и степень агрегации измеряли спектрофотометрически при длине волны 450 нм после 10 мин инкубации (Заявка на изобретение №2012131999).

Результаты. Разработанная тест-система экспресс-определения ММ-ЛП адаптирована на автоматическом биохимическом анализаторе (Конелаб, Финляндия) и проведены исследования сывороток крови 101 больного с атеросклерозом брахиоцефальных артерий и у 74 больных получены положительные результаты (ММ-ЛП>10ЕД).

Заключение. Разработанный способ экспресс-определения атерогенности крови является перспективным биохимическим маркером для ранней диагностики атеросклероза и контроля эффективности терапии.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РГНФ, проект №09-06-00608а.

Способ экспресс-определения минимально модифицированных липопротеинов крови человека

*Шойбонов Б.Б.^{1,2,3,5}, Кравченко М.А.⁴, Шабалина А.А.⁴,
Костырева М.А.⁴, Баронец В.Ю.^{2,3}, Осипов А.В.⁵,
Панченко Л.Ф.^{1,3}*

¹ ФГБУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» РАМН

² ФГБУ «НИИ нормальной физиологии им.П.К.Анохина» РАМН

³ ФГБУ «Национальный научный центр наркологии» МЗиСР РФ

⁴ НЦ неврологии РАМН, 5ФГБУН «ИБХ им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова» РАН, Москва, Россия

Цель: разработка способа экспресс-определения минимально модифицированных липопротеинов (ММ-ЛП) в крови человека, раннего биохимического маркера атеросклероза.

Материалы и методы: ММ-ЛП сыворотки или плазмы крови человека избирательно агрегировались в буфере, содержащем 15% поливинилпирролидон (ПВП) 12600±2700 («Синтвита», Россия), и степень агрегации измеряли спектрофотометрически при длине волны 450 нм после 10 мин инкубации (Заявка на изобретение №2012131999).

Результаты. Разработанная тест-система экспресс-определения ММ-ЛП адаптирована на автоматическом биохимическом анализаторе (Конелаб, Финляндия) и проведены исследования сывороток крови 101 больного с атеросклерозом брахиоцефальных артерий и у 74 больных получены положительные результаты (ММ-ЛП > 10 ЕД).

Заключение. Разработанный способ экспресс-определения атерогенности крови является перспективным биохимическим маркером для ранней диагностики атеросклероза и контроля эффективности терапии.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РГНФ, проект №09-06-00608а.

Иммунореактивность орексин-содержащих нейронов различных структур гипоталамуса крыс линии *Lewis* при развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита

Штейнцвайг А.Д., Перекрест С.В., Новикова Н.С.

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

Рассеянный склероз (РС) — одно из наиболее тяжелых и распространенных заболеваний, связанных с нарушением нейроиммунных взаимодействий и развитием аутоиммунного процесса в ЦНС и последующей демиелинизацией. Наряду с нарушением двигательной активности у пациентов с РС наблюдается ряд нейроэндокринных патологий, проявляющихся в виде слабости, повышенной утомляемости, анорексии и нарушениях сна. В связи с этим, особый интерес для раскрытия центральных механизмов патогенеза РС представляют исследования реакций орексинергической системы мозга, участвующей в регуляции многих вегетативных функций, на различных экспериментальных моделях.

Цель данной работы — провести анализ количества и относительной оптической плотности (ООП) орексин-содержащих нейронов в структурах гипоталамуса крыс линии *Lewis* на четвертые сутки после индукции адоптивно-го переносного экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (апЭАЭ).

Показано, что в различных гипоталамических структурах и зонах реакции орексин-содержащих нейронов на развитие апЭАЭ различны. Выявлено три варианта ответа: уменьшение количества орексин-позитивных нейронов без изменения их ООП (уровень 28: DMH; 31: LHA_d, LHA_{vm}); увеличение ООП орексин-позитивных нейронов без изменения их количества (уровень 26: PVH, AHN, TU; 27: AHN, LHA_{jvv}; 30: DMH, LHA_s, LHA_{jd}); одновременное уменьшение количества орексин-позитивных нейронов и увеличение их ООП (уровень 26: LHA_{jr}, LHA_{ad}, LHA_{jvv}; 27: PVH_{lp}, LHA_{jd}, LHA_{jvd}, LHA_d; 28: LHA_{jd}, LHA_s, LHA_m; 30: LHA_d, LHA_{vm}; 31: PH). Нумерация уровней срезов мозга дана согласно атласу Свансона (Swanson L.W., 2004). Изменения исследованных показателей свидетельствует о существовании двух параллельных процессов, проходящих в гипоталамических нейронах при апЭАЭ: усиление утилизации орексина одними клетками и аккумуляция этого нейромедиатора в других.

Таким образом, при апЭАЭ происходит активация системы орексин-содержащих нейронов и свидетельствуют о том, что различные популяции этих нейронов по-разному отвечают на комплекс патологических процессов, происходящих в организме при развитии апЭАЭ, а также, вероятно, и РС.

Работа выполнена при поддержке и на базе Института нейробиологии им. М. Планка (Мартинсрид, Германия), на моделях, предоставленных др. Н. Каваками и проф. Х. Векерле.