

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»*

ПАТОГЕНЕЗ

Научно-практический журнал

Основан в 2003 году
Выходит 4 раза в год

Том 17, №1, 2019

ЯНВАРЬ-МАРТ

Главный редактор
КУБАТИЕВ А. А. (Москва)

Соредакторы
Дыгай А.М. (Томск), Корнева Е.А. (Санкт-Петербург), Морозов С.Г. (Москва)

Ответственные секретари
Карганов М.Ю., Литвицкий П.Ф., Малышев И.Ю. (Москва)

Редакционная коллегия

Арчаков А.И. (Москва), Афтанас Л.И. (Новосибирск), Баранов В.М. (Москва), Береговых В.В. (Москва), Бобрышев Ю.В. (Сидней, Австралия), Гинтер Е.К. (Москва), Грачев С.В. (Москва), Дауни Г.Ф. (Форт-Уэрт, США), Кашкин К.П. (Москва), Кжишковска Ю.Г. (Гейдельберг, Германия), Колесников С.И. (Москва), Кушлинский Н.Е. (Москва), Манухина Е.Б. (Форт-Уэрт, США), Нинкина Н.Н. (Кардифф, Великобритания), Новицкий В.В. (Томск), Пальцев М.А. (Москва), Панченко Л.Ф. (Москва), Петров В.И. (Волгоград), Пузырев В.П. (Томск), Ревитович А.Ш. (Москва), Сандриков В.А. (Москва), Софронов Г.А. (Санкт-Петербург), Сухих Г.Т. (Москва), Тутельян В.А. (Москва), Угрюмов М.В. (Москва), Франк Г.А. (Москва), Черешнев В.А. (Екатеринбург), Чехонин В.П. (Москва), Шабалин В.Н. (Москва), Швец В.И. (Москва), Шляхто Е.В. (Санкт-Петербург)

Зав. редакцией Иришкин Д.А.
Научный редактор Панкова Н.Б.
Технический редактор Архипова Е.М.

Внимание авторов и читателей: рукописи и иллюстрации не возвращаются. При перепечатке материалов согласие с редакцией журнала «Патогенез» обязательно.
За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.
Журнал зарегистрирован в Федеральном агентстве по печати и массовым коммуникациям. Регистрационный номер ПИ № 77-12736 от 27 мая 2002 г. ISSN 2310-0435
Почтовый адрес редакции: 125315, Москва, а/я 9. e-mail: genius-media@mail.ru; тел.: +7 (495) 518-1451.
Формат 210x290 мм. Бумага офсетная.
Подписано в печати 05.03.2019. Тираж 300 экз. Отпечатано в типографии «ПКФ «СОЮЗ-ПРЕСС», Ярославль.

© ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
© ООО Издательство «Гениус Медиа».

Federal State Budgetary Scientific Institution
«Institute of General Pathology and Pathophysiology»

PATHOGENESIS

Journal of Basic and Applied Medicine

Founded in 2003
Quarterly issue

Volume 17, №1, 2019

JANUARY—MARCH

Editor-in-Chief

A.A. KUBATIEV (Moscow)

Co-editors

A.M. Dygay (Tomsk), E.A. Korneva (Saint-Petersburg), S.G. Morozov (Moscow)

Secretary

M.Yu. Karganov, P.F. Litvitsky, I.Yu. Malyshev (Moscow)

Editorial board

Archakov A.I. (Moscow), Aftanas L.I. (Novosibirsk), Baranov V.M. (Moscow), Beregovykh V.V. (Moscow), Bobryshev Y.V. (Sydney, Australia), Ginter E.K. (Moscow), Grachev S.V. (Moscow), Downey H.F. (Fort Worth, USA), Kashkin K.P. (Moscow), Kzhyshkowska J.G. (Heidelberg, Germany), Kolesnikov S.I. (Moscow), Kushlinskii N.E. (Moscow), Manukhina E.B. (Fort Worth, USA), Ninkina N.N. (Cardiff, United Kingdom), Novitskiy V.V. (Tomsk), Paltsev M.A. (Moscow), Panchenko L.F. (Moscow), Petrov V.I. (Volgograd), Puzyrev V.P. (Tomsk), Revishvili A.Sh. (Moscow), Sandrikov V.A. (Moscow), Sofronov G.A. (Saint-Petersburg), Sukhikh G.T. (Moscow), Tutelian V.A. (Moscow), Ugriumov M.V. (Moscow), Frank G.A. (Moscow), Chereshev V.A. (Ekaterinburg), Chekhonin V.P. (Moscow), Shabalin V.N. (Moscow), Shvets V.I. (Moscow), Shliakhto E.V. (Saint-Petersburg)

Publish Department chief Irishkin D.A.
Scientific editor Pankova N.B.
Technical editor Arkhipova E.M.

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

ОБЗОРЫ

- Аниховская И.А., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И., Иванов Ю.Д., Кубышкин А.В., Маркелова М.М., Покусаева Д.П., Яковлев М.Ю.** Краткая история изучения роли кишечного фактора в старении и/или индукции системного воспаления: достижения, проблемы, перспективы 4
- Мельников М.В., Бойко А.Н., Пащенко М.В., Гусев Е.И.** Катехоламины как медиаторы нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе 18
- Артеменков А.А.** Роль типологии и реактивности в возникновении и развитии дезадаптивных расстройств 26
- Еникеев Д.А., Еникеев О.А., Кузнецов К.О., Ахмадеева Д.Р., Садртдинов Т.А., Габдрахманова И.Д., Гарифуллин А.И.** Влияние высокодисперсного аэрозоля электронных сигарет на дыхательную систему человека и лабораторных животных (обзор) 35

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Лысикова Е.А., Чапров К.Д., Иванова Т.А., Устюгов А.А., Овчинников Р.К., Кухарский М.С., Коршунов Е.А., Дейкин А.В., Бачурин С.О., Нинкина Н.Н.** Нарушение когнитивной функции у трансгенных мышей со сниженным уровнем экспрессии патогенной формы белка FUS человека 41
- Гаврилов Ю.В., Деревцова К.З., Корнева Е.А.** Функциональные изменения цикла «сон-бодрствование» после черепно-мозговой травмы в эксперименте 50
- Кульчиков А.Е., Морозов С.Г., Мусин Р.С., Гриненко Е.А.** Нарушение распределения лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла при экспериментальном остром нарушении мозгового кровообращения различной степени тяжести 56

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Яковлева М.А., Сакина Н.Л., Кольчугина И.Б., Арбуханова П.М., Борзенко С.А., Фельдман Т.Б., Островский М.А.** Сравнительное исследование оксидантных свойств окисленных и неокисленных бисретиноидов липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия глаза человека 66
- Заварыкина Т.М., Тюляндина А.С., Логинов В.И., Бурдённый А.М., Аткарская М.В., Бреннер П.К., Капралова М.А., Стенина М.Б.** Ассоциация полиморфных маркеров генов XRCC1, ERCC2 и CDKN1A с длительностью времени без прогрессирования рака яичников после химиотерапии производными платины и таксанами 72

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

- Эркудов В.О., Пуговкин А.П.** Эффекты добавочного дыхательного сопротивления у подростков с повышенным тонусом симпатической нервной системы 82
- Емельянова А.Г., Тарасов С.А., Морозов С.Г.** Противовоспалительное действие релиз-активных антител к интерферону-гамма, CD4-рецептору и гистамину при респираторно-синцитиальной вирусной инфекции 85

REVIEWS

- Anikhovskaya I.A., Beloglazov V.A., Gordienko A.I., Ivanov Y.D., Kubyshkin A.V., Markelova M.M., Pokusaeva D.P., Yakovlev M.Yu.** A brief history of studying the role of intestinal factor in aging and/or induction of systemic inflammation: Achievements, challenges, and prospects 4
- Melnikov M.V., Boyko A.N., Pashenkov M.V., Gusev E.I.** Catecholamines as mediators of the neuroimmune interaction in multiple sclerosis 18
- Artemenkov A.A.** The role of typology and reactivity in initiation and development of disadaptive disorders 26
- Enikeev D.A., Enikeev O.A., Kuznetsov K.O., Akhmadeeva D.R., Sadrtidinov T.A., Gabdrahmanova I.D., Garifullin A.I.** Effects of highly dispersed aerosol of electronic cigarettes on the respiratory system of humans and experimental animals (review) 35

EXPEREMENTAL RESEARCHES

- Lysikova E.A., Chaprov K.D., Ivanova T.A., Ustyugov A.A., Ovchinnikov R.K., Kucharsky M.S., Korshunov E.A., Deikin A.V., Bachurin S.O., Ninkina N.N.** Transgenic mice with decreased level of the pathogenic form of human FUS protein display cognitive impairment 41
- Gavrilov Yu.V., Derevtsova K.Z., Korneva E.A.** Functional changes in the sleep-wake cycle after experimental traumatic brain injury 50
- Kulchikov A.E., Morozov S.G., Musin R.S., Grinenko E.A.** Disordered distribution of spleen lymphocytes over phases of the cell cycle in experimental stroke of different severity 56

CLINICAL RESEARCHES

- Yakovleva M.A., Sakina N.L., Kolchugina I.B., Arbukhanova P.M., Borzenok S.A., Feldman T.B., Ostrovsky M.A.** Comparative study of oxidant properties of oxidized and unoxidized bisrетиноидs of lipofuscin granules in the retinal pigment epithelium of human eye 66
- Zavarykina T.M., Tyulyandina A.S., Loginov V.I., Burdenny A.M., Atkarskaya M.V., Brenner P.K., Kapralova M.A., Stenina M.B.** Association of polymorphic markers of XRCC1, ERCC2, CDKN1A genes with progression free survival of ovarian cancer patients after platinum/taxanes-based chemotherapy 72

BRIEF REPORTS

- Erkudov V.O., Pugovkin A.P.** Effects of additional respiratory resistance in adolescents with increased sympathetic tone 82
- Emelianova A.G., Tarasov S.A., Morozov S.G.** Anti-inflammatory activity of released-active antibodies to interferon-gamma, CD4-receptor, and histamine against respiratory-syncytial viral infection 85

УДК 616-092

Краткая история изучения роли кишечного фактора в старении и/или индукции системного воспаления: достижения, проблемы, перспективы

Аниховская И.А.^{1,2}, Белоглазов В.А.³, Гордиенко А.И.³, Иванов Ю.Д.⁴,
Кубышкин А.В.³, Маркелова М.М.¹, Покусаева Д.П.^{1,2}, Яковлев М.Ю.^{1,2,5}

- ¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8
- ² ООО «Клинико-диагностическое общество», 127083, Москва, ул. Нижняя Масловка, д. 19
- ³ Медицинская академия имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского». 295000, Симферополь, б-р Ленина, д. 5/7
- ⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича». 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8
- ⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

Изучение кишечного фактора в скорости старения, индукции воспаления и прогрессировании заболеваний неразрывно (прямо или косвенно) связано с великим русским учёным И.И. Мечниковым. Его интуиция инициировала изучение особенностей состава микробиоты долгожителей и операций по удалению толстой кишки (как рудимента и источника токсичных продуктов гниения), результаты которых не имели научного и практического успеха и завершились чуть менее 100 лет тому назад, ознаменовав собой завершение первого этапа исследований. Параллельно с первым стартовал второй этап. Он заключался в изучении биологических свойств и структуры эндотоксина – липополисахарида (ЛПС), число молекул которого на планете очень велико, поскольку ЛПС термостабилен, а главным его источником являются сине-зелёные водоросли, заселившие Мировой океан около 2 миллиардов лет тому назад. Третий этап изучения кишечного фактора в общей патологии стартовал в России треть века назад на стыке первых двух параллельно развивающихся направлений с постулирования системной эндотоксинемии, как облигатного биологического явления и открытия клеточного рецептора TLR4, лигандом которого является ЛПС. В дальнейшем TLR4-подобные рецепторы были обнаружены даже у растений, что позволяет квалифицировать ЛПС не только как экзогормон адаптации, но и как облигатный фактор эволюции. Последняя подразумевает самообновление популяции, для реализации которой облигатные факторы жизнеобеспечения должны обладать и противоположным действием, среди которых стресс и ЛПС. Способность средств снижения содержания ЛПС в крови повышать качество лечебно-профилактического процесса позволяет оптимистично оценивать возможность замедления процессов старения. Первоочередными задачами для достижения поставленной цели являются: определение диапазона физиологических показателей системной эндотоксинемии во всех возрастных группах и создание нового поколения доступных для широкого использования средств селективной элиминации избытка ЛПС из крови (гемодиализ) и кишечника (энтеросорбция), которые могут быть созданы на основе аптамеров.

Ключевые слова: эндотоксин; липополисахарид; системная эндотоксинемия; эндотоксиновая агрессия; воспаление; аптамеры.

Для цитирования: Аниховская И.А., Белоглазов В.А., Гордиенко А.И., Иванов Ю.Д., Кубышкин А.В., Маркелова М.М., Покусаева Д.П., Яковлев М.Ю. Краткая история изучения роли кишечного фактора в старении и/или индукции системного воспаления: достижения, проблемы, перспективы. *Патогенез*. 2019; 17(1): 4-17

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.4-17

Для корреспонденции: Яковлев Михаил Юрьевич, e-mail: yakovlev-lps@yandex.ru

Финансирование. Часть работы, связанная с анализом использования аптамеров в диагностике, выполнена при поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013—2020 годы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Поступила: 18.10.2018

A brief history of studying the role of intestinal factor in aging and/or induction of systemic inflammation: Achievements, challenges, and prospects

**Anikhovskaya I.A.^{1,2}, Beloglazov V.A.³, Gordienko A.I.³, Ivanov Y.D.⁴, Kubyshkin A.V.³,
Markelova M.M.¹, Pokusaeva D.P.^{1,2}, Yakovlev M.Yu.^{1,2,5}**

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² Clinical Diagnostic Society LLC,
Nizhnaya Maslovka 19, Moscow 127083, Russian Federation

³ S.I. Georgievsky Medical Academy of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University.
Bulvar Lenina 5/7, Simferopol 295000, Russian Federation

⁴ V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry,
Pogodinskaya Str. 10, Bldg. 8, Moscow 119121, Russian Federation

⁵ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,
Ostrovityanova Str. 1, Moscow 117997, Russian Federation

Studying the role of intestinal factor in the rate of aging, induction of inflammation, and progression of diseases is inextricably (directly or indirectly) associated with the great Russian scientist I.I. Mechnikov. His intuition initiated studying the long-livers' microbiota and the surgical removal of the colon (as a rudiment and source of toxic rotting products), which did not bring any scientific or practical success. These studies were over a little less than 100 years ago marking the end of the first stage of research. The second stage started in parallel with the first one and consisted in studying biological properties and structure of endotoxin (lipopolysaccharide, LPS). LPS molecules are as numerous on the earth as in the air since LPS is thermally stable and generated by blue-green algae that have inhabited the World Ocean two billion years ago. The third stage of studying the intestinal factor in general pathology started in Russia one third of a century ago at the junction of the two above-mentioned, paralleling endeavors – postulating systemic endotoxemia as an obligate biological phenomenon and discovery of the LPS receptor (TLR4) of innate immunity. TLR4 is carried by humans, animals, fish, sponges, and even plants, which suggests that LPS is not only an adaptive exohormone but also an obligate factor of evolution. This implies population self-renewal, which requires that the obligate life-support factors must also possess an opposite effect, including stress and intestinal LPS. The ability of LPS suppressors to enhance the therapeutic and prophylactic process makes promising a possibility of slowing aging. The primary tasks for achieving this goal are determining the range of systemic endotoxemia physiological indexes in all age groups and creating a readily accessible new generation of methods for selective elimination of LPS from blood (hemodialysis) and intestine (enterosorption) that could be developed on the basis of aptamers.

Keywords: endotoxin; lipopolysaccharide; systemic endotoxemia; endotoxin aggression; inflammation; aptamers.

For citation: Anikhovskaya I.A., Beloglazov V.A., Gordienko A.I., Ivanov Yu.D., Kubyshkin A.V., Markelova M.M., Pokusaeva D.P., Yakovlev M.Yu. [A brief history of studying the role of intestinal factor in aging and/or induction of systemic inflammation: Achievements, challenges, and prospects]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 4-17 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.4-17

For correspondence: Yakovlev Mikhail Yuryevich, **e-mail:** yakovlev-lps@yandex.ru

Funding. The part of the work related to the analysis of the use of aptamers in diagnostics was performed with the support of the Program of Fundamental Research of State Academies of Sciences for 2013-2020

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Received: 18.10.2018

Введение

Более 125 лет назад И.И. Мечников, будучи уже директором Института Луи Пастера, интуитивно почувствовал взаимосвязь между составом микрофлоры кишечника, заболеваниями и скоростью старения. На это его сподвигла высокая продолжительность жизни болгар, систематически использующих в пищевом рационе простоквашу, и непоколебимая убежденность в ненужности для организма человека толстой кишки (основного местонахождения микробиоты), которую он считал атавизмом. Авторитет этого великого учёного был столь незыблем, что на протяжении нескольких десятков лет уже после его кончины по инициативе самих пациентов (число которых исчисляется тысячами) были проведены операции по удалению толстой кишки. Целесообразность этого (по своей сути членовредительского) оперативного вмешательства является спорной, поскольку

толстый кишечник является не только территорией образования потенциально токсичных продуктов гниения, но и производственной площадкой для синтеза витаминов, аминокислот и иных полезных организму веществ. Научных результатов о целесообразности этих операций тоже не было получено, поскольку отсутствовала контрольная группа, состоящая из однояйцевых близнецов. Гениальная по своей сути идея Ильи Мечникова о способности микробиоты влиять на состояние здоровья очаровала не только обывателя, но и научное сообщество, которое в надежде продления жизни на протяжении многих десятилетий изучало особенности состава кишечной микрофлоры долгожителей в местах их компактного проживания. Интерес к составу кишечной микрофлоры (но уже под названием «микробиота») проявился вновь совсем недавно в связи с открытием рецепторов врождённого иммунитета, новыми знаниями о важнейшей роли бактериального фактора в

регуляции активности иммунитета и иных адаптивных систем обеспечения гомеостаза.

История и достижения в изучения роли кишечного фактора в старении и/или индукции системного воспаления

За 111 лет изучения роли кишечного фактора в старении (1882-1993), а значит и механизмов развития важнейших заболеваний человека, которые, как правило, всегда сопровождают и манифестируют этот процесс, не было достигнуто существенного прогресса (за исключением появления новых лекарственных препаратов и пищевых добавок: зубиотиков, энтеросорбентов и др.). Главными причинами этого, на наш взгляд, является преувеличение патогенной роли гнилостных процессов (если принять на веру её наличие) в толстом кишечнике, отсутствие до недавнего времени необходимой методической базы для изучения симбионтных взаимоотношений между различными сапрофитными и условно патогенными представителями микробиоты, выявление лигандов врождённого иммунитета в общем кровотоке. Среди последних в первую очередь это касается эндотоксина (ЭТ), история изучения структуры и биологических свойств которого насчитывает уже 125 лет.

Знаковым (если не мистическим) представляется тот факт, что практически одновременно и в том же месте («на расстоянии вытянутой руки» — в новом здании Института, построенным Луи Пастером), Р. Пфейффером [1] был введён в научный лексикон новый термин — «эндотоксин». Именно так обозначил известный учёный-микробиолог термостабильный компонент лизата грамотрицательных бактерий, который разрушался только при двухчасовом автоклавировании. Знал бы об этом последовательный эволюционист И.И. Мечников, равно как и то, что число молекул эндотоксина на планете очень велико, поскольку сине-зелёные водоросли, являющиеся основным источником поступления в окружающую среду этого термостабильного соединения, заселили мировой океан около двух миллиардов лет тому назад... Думается, что Проповедник учения Дарвина сделал бы вполне логичное заключение: эволюция представителей живой природы происходила не в двух, как это было принято считать до недавнего времени, а в трёх океанах: водном, воздушном и эндотоксиновом..., а обнаружение TLR4 (клеточного рецептора врождённого иммунитета к липополисахаридам), равно как и прогресс в изучении роли кишечной микрофлоры (микробиоты) в процессах старения и патогенезе важнейших заболеваний человека и животных, наступил бы лет на 30-50 раньше. Но, увы, всему своё время, и этому предстоял столетний период кропотливого труда учёных самых различных отраслей знаний в области фундаментальных и прикладных наук.

Эндотоксин (ЭТ) или, как это выяснилось через 60 лет, липополисахарид (ЛПС), стал одной из наиболее глубоко и всесторонне изучаемых молекул микробного происхождения. Выявление биоло-

гических свойств ЭТ и, более того, использование с диагностическими и лечебными целями значительно опережало расшифровку его молекулярной структуры. Уже через 1—2 года после появления этого термина в эксперименте на животных были обнаружены два очень важных свойства ЭТ: способность повышать температуру тела (пирогенность) [2] и противопухоловая активность [3], тогда как его химическое строение было постулировано только лишь через 60 лет [4], а структурная организация расшифрована ещё десятью годами позже (рис. 1) [5]. Пирогенная активность ЭТ использовалась в фармакопее для определения безвредности солюционных лекарственных препаратов при помощи биопробы на кроликах, которая в 90-е годы XX столетия была успешно заменена ЛАЛ-тестом, а противопухоловая способность ЛПС уже давно применялась клиницистами для лечения инкурабельных онкологических больных. Около ста назад была обнаружена и способность ЭТ активировать миелоцитарный росток костного мозга, что широко использовалось на профессионально вредных свинцовых производствах. Отсутствие лейкоцитоза у рабочих в ответ на парентальное введение ЛПС-содержащих препаратов являлось основанием для смены вида деятельности работника. Эмпирическим путём была обнаружена и определённая эффективность этих препаратов для лечения шизофрении, сифилиса и иных хронических заболеваний. В частности, ЭТ-содержащие лекарства уже давно используются для перевода хронического воспаления в острую фазу, что наибольшее распространение и успех принесло в лечении гинекологических заболеваний. Использование этих препаратов для лечебно-диагностических целей базировалось на результатах феноменологического изучения свойств ЛПС при экспериментальной эндотоксинемии на животных.

Эндотоксинемия как научный термин зародился в недрах экспериментальной биологии для обозначения факта присутствия ЭТ в общем кровотоке при его парентальном введении лабораторным животным. В последствие этот термин стал использоваться и в клинической медицине при изучении инфекционных заболеваний и сепсиса, этиологически обусловленных и/или связанных с грамотрицательными микроорганизмами. В многочисленных опытах *in vivo* и *in vitro* была обнаружена способность ЛПС активировать системы комплемента, полиморфноядерных лейкоцитов и макрофагов, перекисное окисление липидов; миелоцитарный росток костного мозга и все иные звенья иммунитета; гемостаз, эндокринную и центральную нервную системы; индуцировать ДВС-синдром и атерогенез; обуславливать развитие послеоперационных осложнений и синдрома полиорганной недостаточности [6—13]. Такой широчайший спектр патогенных (и потенциально полезных) биологических свойств ЭТ, обнаруженных за 100-летний период их выявления, позволил отечественным учёным в начале 80-х годов прошлого столетия предположить фундаментальную роль ки-

шечного ЛПС в адаптации и общей патологии [13], побудил к созданию методологической и методической базы [14-16] по определению места кишечного фактора в биологии человека, который на тот период времени если и рассматривался, то исключительно в рамках инфекционных заболеваний. Главной причиной столь строго ограничения явился гипноз самого термина [17], который *a priori* не допускал даже возможности рассматривать ЛПС в качестве участника физиологических процессов адаптации и патогенеза «неинфекционных заболеваний». Переломным моментом в изучении роли микробиоты в биологии человека и животных явился обнаруженный отечественными исследователями в середине 80-х годов XX века факт наличия ЭТ в общем кровотоке условно здоровых молодых людей [18], который позволил преодолеть гипноз термина «эндотоксин» и инициировал проведение исследований, позволивших постулировать новое биологическое явление, получившее название «системная эндотоксинемия» [19], определить её нормативные показатели [20] и средства снижения уровня содержания ЭТ в крови [21], открыть ключевой рецептор врождённого иммунитета (TLR4), лигандом которого является ЛПС [22-24].

Системная эндотоксинемия (СЭЕ) как дефиниция, обозначающая участие кишечного ЛПС в физиологии и патологии человека, появился в научной семантике 25 лет назад. Правомочность этого очень смелого (если не сказать дерзкого) постулата была подтверждена Нобелевскими достижениями зарубежных коллег (Номинация 2008 г. и Премия 2011 г.), которые обнаружили ведущую роль врождённого иммунитета в регуляции адаптивного иммунного ответа. И, если последний потенциально располагает возможностью синтеза молекул антител с чрезвычайно разнообразием антиген-распознающих центров (10^{14} – 10^{16}), что обеспечивает способность реализовывать противоопухолевую защиту, то врождённый

иммунитет располагает всего одиннадцатью рецепторными молекулами семейства TLR [25]. Принято считать, что все TLR активируют процесс синтеза провоспалительных цитокинов, что у авторов настоящей публикации вызывает некоторые сомнения, поскольку хорошо известный клиницистам факт способности вирусных инфекций обуславливать иммунодефицит находится в некотором противоречии с этим мнением. Представляется возможным допустить, что часть TLR может работать в синергичном режиме, хорошо известна способность экзотоксинов стафилококка потенцировать активность ЛПС, тогда как другая (вирусы) – уменьшать. Косвенно это находит своё подтверждение и в результатах клинических исследований по изучению этиологии ЭТ-агрессии при различных нозологических формах эндогенных иридоциклитов и эндофтальмитов [26-28]. Этому аспекту функционирования врождённого иммунитета и роли СЭЕ в определении его активности должно быть уделено особое внимание, поскольку воспаление является базисным элементом патогенеза практически всех заболеваний, а уровень активности иммунной системы предопределяет форму их течения и исход.

Завершая краткую информацию, касающуюся TLR-рецепторов, следует особо отметить ключевую роль ЛПС-рецептора TLR4, который существенно отличается от других рецепторов этого семейства как по особенностям рецепции лиганда, так и по механизмам трансдукции сигнала к ядру клетки. Взаимодействие ЛПС со своим рецептором (TLR4) имеет большие ограничения по сравнению с лигандами иных мембранных TLR, что значительно расширяет возможности регуляции их чувствительности к ЭТ, а значит и регуляции активности врождённого иммунитета. Это обеспечивает более широкие возможности повышения или снижения способности рецептора реагировать на ЛПС, т.е., создаёт основу для

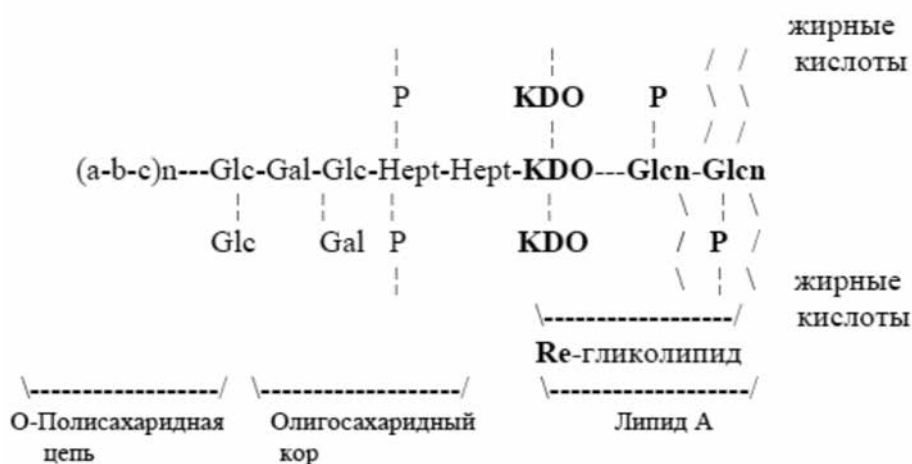


Рис. 1. Молекула эндотоксина состоит из двух вариабельных гидрофильных частей (О-полисахаридная цепь и олигосахаридный кор) и консервативного гидрофобного фрагмента (липид А) (по [5]).

управления активностью иммунной системы с учётом других «заинтересованных» в этом процессе клеток, органов и систем, в том числе продуцирующих CD14, адаптерные белки и иные кофакторы, необходимые для взаимодействия ЛПС с TLR4, что и является одним из основных предназначений гомеостатической роли СЭЕ – регуляция активности адаптивных систем. Этот аспект роли кишечного фактора в гомеостазе до сих пор является дискуссионным и нуждается в целенаправленных исследованиях. Он может быть изучен на экспериментальных и клинических моделях «эндотоксиновой толерантности» и «эндотоксиновой недостаточности» [29, 30], которые до настоящего времени не имеют чётких определений.

Эндотоксиновая толерантность (ЭТТОЛ). Этому термину можно дать следующее рабочее определение: «ЭТТОЛ – это неспособность организма отвечать повышением температуры тела в ответ на парентеральное введение животным пирогенных доз ЛПС». С этим феноменом постоянно соприкасалась фармакопея при использовании кроликов для определения безвредности солиционных лекарственных препаратов. Способность животных реагировать на пирогенные дозы ЭТ восстанавливалась через 3-6 месяцев после первой биопробы. Таким образом, ЭТТОЛ – феномен преходящий. Этот термин в настоящее время можно отнести к семантике исключительно экспериментальной биологии.

Эндотоксиновая недостаточность (ЭТНЕД) как термин был введён в научную семантику в 2000 году [29, 30]. Его появление было связано с необходимостью констатировать очень слабый гуморальный иммунный ответ (или его отсутствие) на ЛПС у волонтеров, в крови которых и концентрация ЭТ была очень незначительной. Дальнейшие исследования обнаружили, что резкое угнетение гуморального звена антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ) гораздо чаще (на порядок) имеет место при уровне содержания ЛПС в общем кровотоке, значительно превышающим верхнюю границу возрастной нормы. Под этим термином следует понимать частичную утрату иммунной системы реагировать на ЭТ синтезом специфических антител. Такие показатели СЭЕ характерны для больных хроническими герпес-вирусными инфекциями, гепатитом С и ВИЧ [31]. Наличие ЭТНЕД различной степени выраженности было обнаружено практически при всех хронических заболеваниях, в том числе у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа, хронической ишемии нижних конечностей, эндогенных иридоциклитах и эндофтальмитах, атопическом дерматите, системной красной волчанке, женском бесплодии и хронической воспалительной патологии органов малого таза [32-38]. Преодоление ЭТНЕД феноменологически возможно двумя путями: увеличением концентрации ЛПС в кровотоке (пирогенал давно используется в гинекологической практике для перевода хронического воспаления в острую фазу) и снижением уровня ЭТ в гемоциркуляции. Последнее может быть достигнуто самыми различными путями, в том числе и лечебным голо-

данием [39]. ЭТНЕД представляется возможным квалифицировать как один из базисных элементов «хронической эндотоксиновой агрессии» (ХЭА) и её проявлением.

Эндотоксиновая агрессия (ЭА) как термин употребляется в экспериментальной биологии уже достаточно давно для констатации факта присутствия в общей гемоциркуляции животных ЛПС, который в зависимости от дозы парентерально введённого ЭТ обуславливает совокупность патологических изменений: от лейкоцитоза до синдрома полиорганной недостаточности. Однако как дефиниция ЭА появилась в научной семантике относительно недавно [29, 30] и в последней редакции сформулирована следующим образом [35]: «Эндотоксиновая агрессия – предболезнь или универсальный фактор патогенеза, обусловленной избытком ЛПС кишечного и/или иного происхождения в общем кровотоке, который манифестируется той или иной нозологической формой заболевания в силу генетической и/или приобретённой предрасположенности». Появлению этой дефиниции предшествовали клинические исследования, осуществлённые главным образом отечественными учёными по определению нормативных возрастных показателей СЭЕ [20], поиску средств нормализации показателей СЭЕ [21] и использованию их как составляющей схемы терапии различных нозологических форм заболевания с целью повышения эффективности лечебного процесса. Последнее было успешно достигнуто, что на феноменологическом уровне подтвердило правомочность квалификации ЭА как универсального фактора патогенеза заболеваний человека и животных (**рис. 2**).

В физиологических условиях молекулы ЛПС в составе хиломикронных проникают в портальную кровь, большая часть которой ($\geq 95\%$) поступает в печень, где его основная часть ЭТ используется для стимуляции иммунитета, тогда как остаток выводится с желчью, а меньшая ($\leq 5\%$) – в системный кровоток для поддержания всех звеньев иммунной системы и иных адаптивных систем (ЦНС, гемостаз и др.) в состоянии физиологического тонуса. Поступивший в общий кровоток ЛПС расходуется на активирование адаптивных систем, частично депонируется в крови и жировой ткани [39, 40] и/или выводится выделительными системами в составе экскретов выделительных систем, т.е., с желчью, мочой, калом, потом и т.д. Таким образом, причинами развития ЭА может быть недостаточность кишечного барьера и одной или нескольких выделительных систем, а также стресс, который обеспечивает дополнительный сброс портальной крови в общую гемоциркуляцию [41]. Свой основополагающий патогенный эффект ЭА реализует опосредованно через индукцию системного воспаления, которое является базисным элементом патогенеза практически всех заболеваний.

В связи с этим целесообразно привести междисциплинарное определение воспаления. *Воспаление* это аварийный механизм иммунной защиты, направленный на распознавание, уничтожение и эли-

минацию чужеродных и собственных антигенов, носящий адаптивный и/или патогенный характер [35]. Другими словами, воспаление – всегда зловредный процесс. И в этом достаточно легко убедиться на примере очень широкого спектра нозологических форм заболеваний: женского бесплодия, эндогенных иридоциклитов, аллергозов, атеросклероза, синдрома приобретённого иммунодефицита и сепсиса.

Женское бесплодие как демографическая проблема имеет два важных аспекта: необходимость зачатия, которое при вторичном бесплодии решается достаточно успешно при помощи экстракорпорального оплодотворения, и вынашивание плода. И если первое сегодня уже не представляет проблемы, то второе без ликвидации вялотекущего воспалительного процесса весьма проблематично. Особое место занимает первичное бесплодие, причин развития которого очень много. И, что крайне любопытно, использование средств нормализации показателей СЭЕ в схеме терапии этих разных по своей сути заболеваний позволило существенно повысить эффективность лечебного процесса обеих нозологических форм (рис. 3) [35], что свидетельствует об универсальной патогенетической роли ЭА. Важно отметить значительное улучшение интегральных показателей СЭЕ, которое, однако, не приводило к их полной нормализации, что свидетельствует о перспективе ещё более значительных успехов в лечении женского бесплодия, которое возможно достичь при помощи динамического мониторинга за лабораторными показателями СЭЕ. Последний позволит индивидуализировать лечебно-профилактический процесс и определить продолжительность курса лечения этого хронического воспалительного заболевания.

Иридоциклиты неясной и вирусной этиологии представляют собой не менее важную медико-социальную проблему, поскольку являются предтечей таких инвалидирующих заболеваний, как катаракта, глаукома и

отслойка сетчатки. Для этого заболевания характерно рецидивирующее течение с периодами обострения воспалительного процесса от 2 до 10 раз в год. Использование средств снижения концентрации ЛПС в общей гемодиализации и повышения активности антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ) в схеме [26–28] общепринятой терапии заболеваний позволило повысить эффективность лечения больных, на порядок снизив частоту рецидива (рис. 4) [35]. Обращает на себя внимание и другой немаловажный факт. Для развития вирусного иридоциклита требуется меньшая концентрация ЭТ в общем кровотоке по сравнению с заболеванием неясной этиологии. Последнее косвенно подтверждает участие и герпес-вирусной инфекции в патогенезе иридоциклита.

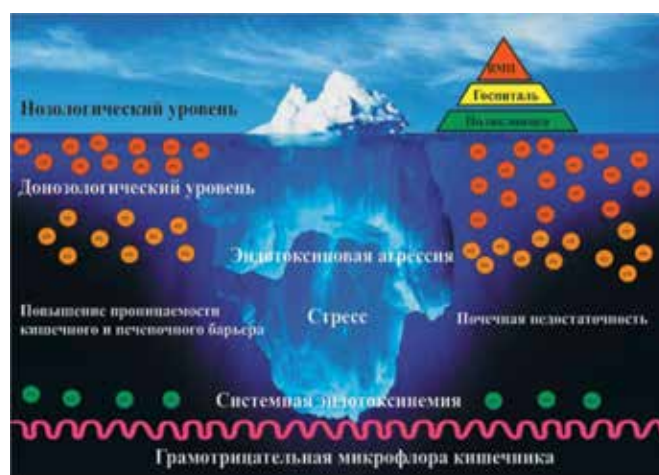


Рис. 2. Трансформация системной эндотоксемии в патогенный формат своего биологического воздействия на организм (эндотоксинувую агрессию) может происходить в результате нарушения кишечного и печеночного барьеров, почечной недостаточности и/или стресса (по [13]).

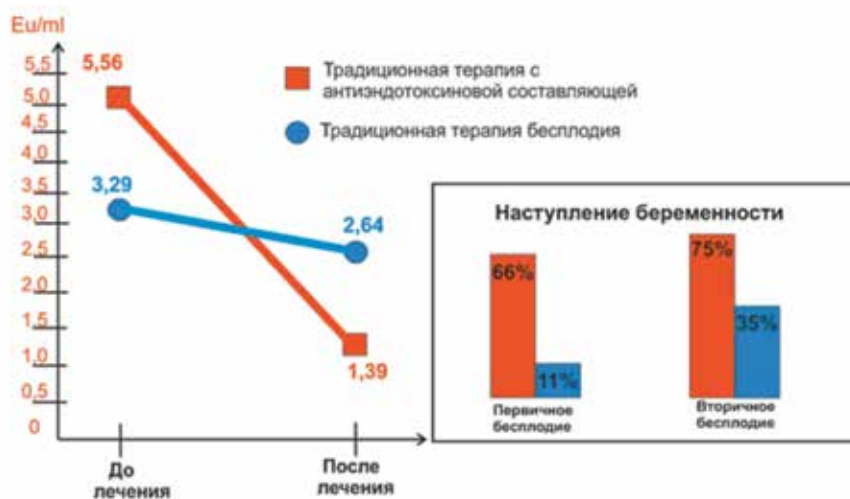


Рис. 3. Использование средств нормализации интегральных показателей СЭЕ в схеме терапии позволяет повысить эффективность лечения первичного женского бесплодия в 6 раз, вторичного – в 2 раза (по [35]).

Аллергозы представляют собой большую и всё более актуальную проблему практического здравоохранения – частота заболеваемости детей и взрослых прогрессивно растёт. Направление поиска более эффективных средств лечения аллергозов и профилактики кризов этиологически связано с аллергенами самого различного происхождения. В связи с этим представляется крайне интересным факт успешного предотвращения аллергических кризов при существенном (но не равномерном) снижении концентрации антител к аллергенам в крови больных при уменьшении уровня содержания ЛПС в общей гемоциркуляции (рис. 5) [35]. Это неспецифическое направление лечения аллергозов представляется весьма перспективным и требует дальнейшего развития.

Атеросклероз как научная проблема имеет стародавнюю историю и сегодня уже ни у кого не вызывает сомнений, что этот патологический процесс

имеет воспалительный генез. Ясно и то, что заболевания атеросклеротической природы прогрессируют с возрастом и являются одним из интегральных маркёров скорости самого процесса старения. Первое и на сегодняшний день пока единственное исследование по определению нормативных показателей СЭ в возрастном аспекте [20] позволяет представить их динамику следующим образом (рис. 6): нарастание уровня содержания ЭТ сопровождается снижением активности АЭИ.

Первые морфологические данные, свидетельствующие о способности ЭА индуцировать атерогенез в эксперименте на кроликах, были получены в середине 70-х годов прошлого столетия [13] (опубликованы в центральной научной прессе 10 лет спустя [8]), нашли своё развитие в последующих исследованиях [9, 10, 32, 42-44] и завершились формулировкой эндотоксиновой теории атеросклероза [45], которая

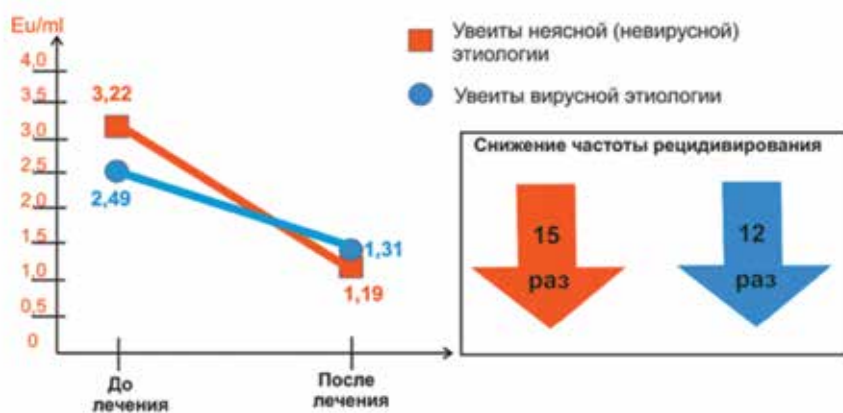


Рис. 4. Антиэндотоксиновая составляющая в схеме терапии позволяет снизить частоту рецидивирования иридоциклитов (по [35]).

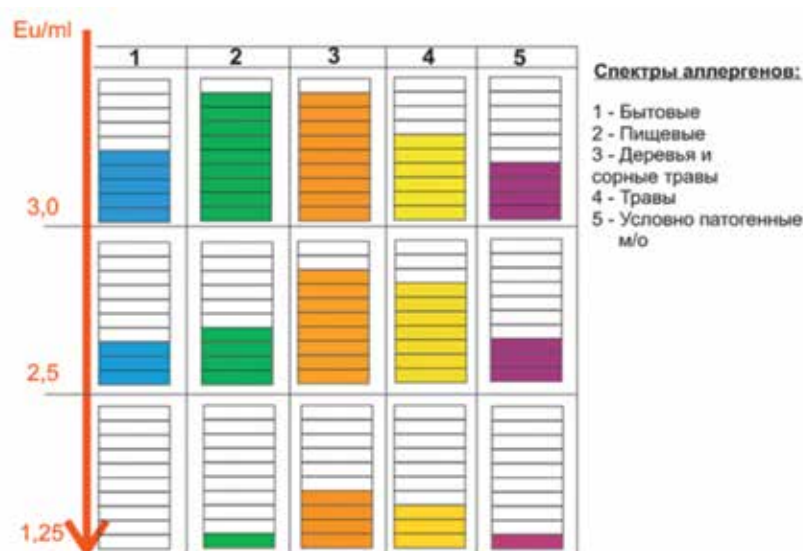


Рис. 5. Медикаментозное снижение уровня содержания эндотоксина в крови больных аллергозами предупреждает развитие аллергических кризов и существенно снижает концентрацию антител к аллергенам (по [35]).

объединяет практически все концепции патогенеза болезней атеросклеротической природы, среди которых особое место принадлежит острому инфаркту миокарда (ОИМ). Развитию ОИМ, как правило, сопутствует ЭА, имеющая острый или чаще хронический характер [46, 47]. Степень участия ЭА в патогенезе атеросклероза и ОИМ изучается в настоящее время, в том числе и в рамках международного проекта «BIOFLOW-3».

Синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) и сепсис сегодня тоже рассматриваются с позиций эндотоксиновой теории [12, 31, 35]. В основе развития СПИД у ВИЧ-инфицированных больных лежит синдром системного воспалительного ответа (ССВО), который индуцируется ЭА кишечного происхождения и носит циклический характер (рис. 7) [31]. Пик фазы гиперактивности ССВО у ВИЧ-инфицированных пациентов очень напоминает (если не идентичен) начальному периоду развития сепсиса, которому дано следующее междисциплинарное определение: «Сепсис — синдром системного воспалительного ответа на эндотоксиновую агрессию кишечного и/или иного происхождения, который в отсутствие эффективной терапии сопровождается бактериемией и синдромом полиорганной недостаточности» [35]. Правомочность этой дефиниции подтверждается эффективностью лечения сепсиса с использованием селективной гемосорбции при помощи ЛПС-связывающих сорбентов [48—50].

Универсальная роль ЭА в патогенезе самых различных заболеваний определяется её способностью индуцировать системное воспаление, которое лежит в основе развития если не всех, то подавляющего большинства заболеваний. К числу таковых совсем недавно причислили болезни Альцгеймера и Паркинсона [51], роль ЛПС в патогенезе которых ещё не изучалась.

Достижения в области познания роли кишечного ЛПС в биологии человека очевидны. Они позволяют квалифицировать ЭТ как «экзогормон», который является облигатным компонентом адаптации и общей патологии. Более того, наличие рецепторов к ЛПС у животных, рыб и растений наряду с присутствием ЭТ в окружающей среде в значительном количестве позволяет характеризовать ЛПС как облигатный фактор эволюции живой материи. Использование этих знаний в лечебном и профилактическом процессах уже сегодня позволяет значительно повышать их эффективность, с оптимизмом развивать эндотоксиновое направление лечения и профилактики заболеваний, надеяться на возможность замедления процессов старения и увеличения продолжительности жизни. Старение и смерть, обидная для индивида, являются базисным элементом самообновления популяции. Для того чтобы обеспечить эту фатальную популяционную необходимость, облигатные факторы жизнеобеспечения одновременно должны выполнять и уничтожающую функцию, к числу которых представляется возможным отнести ЭТ и стресс [52].

В упрощённом формате достижения в области изучения роли кишечного ЛПС в биологии человека можно представить следующим образом. В физиологических условиях целостности кишечного барьера молекулы ЭТ поступают в портальный кровоток в составе хиломикрон и поддерживают различные звенья иммунной системы в состоянии необходимого физиологического тонуса, поскольку до 5% портальной крови поступает в общую гемодинамику, минуя печень. Объём сброса портальной крови в системный кровоток (по шунтам) увеличивается при стрессе, который опосредовано ЛПС регулирует уро-

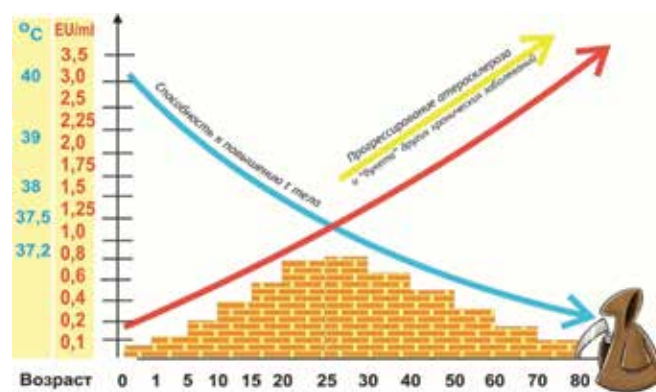


Рис. 6. Возрастное прогрессирование атеросклероза развивается на фоне повышения уровня содержания эндотоксина в крови, снижения активности антиэндотоксинового иммунитета и способности к повышению температуры тела (по [52]).

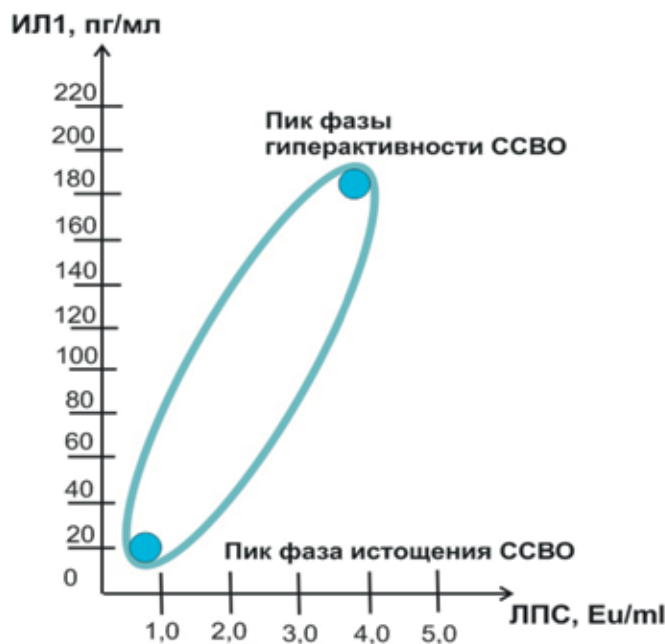


Рис. 7. Синдром приобретённого иммунодефицита у ВИЧ-инфицированных больных развивается на фоне циклического ЛПС-индуцированного синдрома системного воспалительного ответа (по [31]).

вень активности адаптивных систем. Хронический стресс (депрессия, физическая и/или эмоциональная перегрузка) может быть единственной причиной развития ЭА [35, 41, 53], которую представляется возможным квалифицировать как предболезнь [30, 35]. Кроме стресса, есть ещё две главных причины развития ЭА – недостаточность кишечного и печёночного барьеров.

Средства нормализации интегральных показателей СЭЕ: уровня содержания ЛПС в общем кровотоке и активности АЭИ

Среди средств снижения концентрации ЭТ в кровотоке можно выделить несколько направлений воздействия на организм [21]:

- уменьшение объёма поступления ЛПС из кишечника, которое можно достичь устранением причин повышенной кишечной проницаемости: дисбиоз; паразиты и инфекции; диетой, обеднённой жирами (липиды являются транспортной системой доставки ЭТ в кровотоки [39]) и обогащенной естественными сорбентами (клетчатка); приемом зубиотиков, обладающих повышенным сродством к слизистой (живые бифидумбактерии [54]); энтеросорбция [55];

- увеличение образования и выделения желчи, поскольку печень является основным ЛПС-потребляющим и выводящим (с желчью) ЭТ органом [13, 19, 30, 35];

- активация процессов мочеобразования (почки являются основным ЛПС-выводящим органом [56]) и иных выделительных органов и систем [35];

- профилактика хронического стресса самыми различными способами;

- селективная гемосорбция при помощи ЛПС-фильтров и иммунопрепаратов, представляющих собой концентрат человеческих антиэндотоксиновых антител, которые практически недоступны в силу астрономической стоимости и применяется крайне редко даже в элитарных стационарах.

Список перечисленных средств уменьшения уровня содержания ЭТ крови неполный. Его можно было бы расширить средствами повышения активности АЭИ (имеется обратная зависимость с концентрацией ЛПС в крови [20]), к числу которых предположительно можно отнести лазерное и ультрафиолетовое облучение крови, плазмаферез и гемодиализ. У пользователей искусственной почкой не развивается ССВО, что *a priori* свидетельствует о способности гемодиализной колонки задерживать ЭТ, поскольку почки наряду с печенью являются основными ЛПС-выводящими органами. Будущие исследования должны быть направлены, в том числе, на выявление ЭТ-элимирующих средств и процедур из числа имеющихся, создание новых более эффективных и доступных.

Проблемы и перспективы

Корректность и элегантность постановки проблемы определяют успешность её решения, перспективы научно-изыскательского процесса и

внедрения их результатов в практическое здравоохранение. Исходя из этого посыла, задачи должны формулироваться и решаться сразу по всем звеньям технологической цепочки создания инновационной продукции, предпочтительно в рамках государственной программы и/или частно-государственного партнёрства. Не имея возможности перечислять все проблемы, которые необходимо решить для скорейшего практического использования, остановимся лишь на главных из них:

- определение нормативных показателей СЭЕ во всех возрастных группах, используя в протоколе исследования маркёры воспаления и состояния активности иммунной системы, начиная с раннего периода новорожденности и завершая глубокой старостью;

- обучение студентов и врачей азам эндотоксикологической теории, её прикладному использованию для диагностического и лечебно-профилактического процесса;

- осуществление поиска новых средств селективной сорбции ЛПС из крови и кишечника, создание на их основе нового поколения гемо- и энтеросорбентов.

Первая задача уже предварительно решена, её необходимо расширить как возрастными группами, так и дополнительными исследованиями согласно расширенному протоколу исследования. Вторая задача уже частично решается в рамках курса патологической анатомии и последипломного образования в РНИИМУ им. Н.И. Пирогова. Третья задача может быть решена путём использования аптамеров – синтетических однопептидных молекул РНК или ДНК, способных к высокоспецифичному связыванию с другими молекулами-мишенями. Весьма большой опыт использования аптамеров для селективной сорбции различных соединений у отечественных учёных уже имеется. Это касается аптамеров к белкам, ассоциированным с онкозаболеваниями, например, D-NFATc1 [58], аптамеров к вирусным антигенам, в частности, вируса гепатита С (разрабатываемых в качестве терапевтического средства [57], аптамеров к gp120 – белку оболочки вируса иммунодефицита человека типа 1 (HIV-1). Эти аптамеры успешно использовались в качестве биоспецифических зондов для создания высокочувствительных нанопроволочных и АСМ-чипов для выявления HCVcoreAg [58], gp120 [59] и D-NFATc1 [60].

Аптамеры представляют из себя искусственно синтезированные одноцепочечные ДНК- или РНК-последовательности, которые специфически связываются со своими мишенями [61]. Они получают с помощью процедуры SELEX, в ходе которой происходит отбор нужных последовательностей олигонуклеотидов [62]. Аптамеры имеют следующие преимущества при их использовании по сравнению с антителами: дешевизна производства, стабильность, слабая иммуногенность, возможность синтеза к широкому классу как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных мишеней, в том числе белков и липополисахаридов, дисахаридов [63, 64]. Поэтому

аптамеры могут использоваться в терапевтических или диагностических целях в качестве высокоэффективных аналогов антител. Так, для некоторых из созданных аптамеров показана потенциальная возможность использования для терапии болезней Паркинсона, Альцгеймера и ряда других заболеваний. В частности, продемонстрирована возможность блокирования ДНК-аптамерами агрегации альфа-синуклеина в клетках при болезни Паркинсона [65], а также потенциального использования амилоид-связывающего РНК-аптамера для предотвращения агрегации амилоидов в кровеносных сосудах [66]. Следует отметить, что константа диссоциации аптамеров, специфичных к белкам, может быть снижена с помощью специальной процедуры, и такие аптамеры носят название соматеры [67]. Эта модификация заключается во введении в состав молекул дополнительных гидрофобных групп, повышающих сродство к белку. В настоящее время известны порядка тысячи соматеров к широкому спектру функционально значимых белков, производимых фирмой SomaLogic и другими научными группами. Такие соматеры могут использоваться в качестве эффективных специфических сорбентов нового поколения.

Заключение

Более чем столетняя история изучения кишечного фактора старения развивалась по синусоиде и имела два пика с интервалом в 100 лет. Первый завершился неудачно и на долгое время был предан забвению, поскольку членовредительство по удалению толстой кишки не оправдало надежд волонтеров, что вызвало разочарование не только у Обывателя, но и у Исследователя. Предтечей второго пика интереса к микробиоте явилось постулирование СЭЕ как облигатного биологического явления и познание основополагающих принципов регуляции активности иммунной системы [68] – ведущей роли в этом процессе врожденного иммунитета и его главного рецептора TLR4, аналоги которого обнаружены практически у всех форм живой материи, а основным природным источником ЛПС – сине-зелёные водоросли (заселившие мировой океан около 2 миллиардов лет назад), что позволяет квалифицировать этот термостабильный компонент (ЛПС) как важный фактор эволюции в глобальном масштабе и адаптации – в индивидуальном. Способность кишечного ЭТ при участии стресса регулировать активность иммунной системы носит как полезный, так и патогенный характер даже при сохранности кишечного и/или печёночного барьеров, недостаточность которых сама по себе может быть причиной развития ЭА, инициирующей системное воспаление, которое является базисным элементом патогенеза заболеваний. А поскольку ЭА является предтечей и универсальным фактором патогенеза заболеваний [30], то средства нормализации показателей СЭЕ могут быть использованы для повышения эффективности лечебно-профилактического процесса.

Необходимыми условиями для улучшения качества лечебно-профилактической помощи, базиру-

ющейся на эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека, является определение возрастных нормативных показателей СЭЕ (под контролем маркеров активности иммунитета и системного воспаления) и создание новых средств элиминации избытка ЛПС из общей гемодинамики и кишечника при помощи селективной гемо- и энтеросорбции, что представляется возможным осуществить с помощью аптамеров с программируемыми сорбционными свойствами.

Список литературы

1. Pfeiffer R. Untersuchungen uber das Cholera Gift. *Z. Hygiene*. 1882; 11: 393-412.
2. Centanni E. Uber Infektionsfieber. *Chem. Zentr.* (4-th Series). 1884; 6: 597.
3. Coley W.B. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. *Am. J. Med. Sci.* 1883; 105: 487-511.
4. Shear M.J., Turner F.C. Chemical treatment to tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 1943; 4: 81-97.
5. Westphal O., Luderitz O. Chemische und biologische Analyse hochgereinigter Bacterienpolysaccharide. *Deutsch Med. Wochenschr.* 1953; 2: 17-19.
6. Раби К. *Локализованная и рассеянная внутрисосудистая коагуляция*. М.: Медицина, 1974. 215 с.
7. Morrison D.C., Ryan J.I. Bacterial endotoxins and host immune responses. *Adv. Immunol.* 1979; 28: 293-450.
8. Яковлев М.Ю. Морфология миокарда при эндотоксиновом шоке. *Архивы патологии*. 1985; 7: 34-41.
9. Яковлев М.Ю. Эндотоксиновый шок. *Казанский медицинский журнал*. 1987; 3: 207-211.
10. Freudenberg N. Reactions of the vascular intima to endotoxin shock. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989; 308: 77-89.
11. Мешков М.В., Гатауллин Ю.К., Иванов В.Б., Яковлев М.Ю. *Эндотоксиновая агрессия как причина послеоперационных осложнений в детской хирургии (новые перспективы профилактики)*. Новые лечебно-диагностические технологии. Том 2. М.: Московские учебники-СиДиПресс, 2007. 144 с.
12. Яковлев М.Ю. Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия – эндотоксиновая агрессия – SIR – синдром и полиорганная недостаточность, как звенья одной цепи. *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2005; 1: 15-18.
13. Яковлев М.Ю. *Воспоминания о лучшем, или об истоках эндотоксиновой теории*. В сб.: Актуальные проблемы общей патологии. Юбилейная научно-практическая конференция. Казань, 2015. 68-79.
14. Уразаев Р.А., Яковлев М.Ю., Аниховская И.А., Крупник А.Н., Суджян Е.В., Гатауллина Р.И., Гатауллин Ю.К. *Способ оценки резистентности организма (SOIS-IFA)*. Патент РФ 2011913; 1994.
15. Лиходей В.Г., Яковлев М.Ю., Аполлонин А.В., Козлова Н.Н., Кудрявцев А.Е., Юшук Н.Д. *Способ оценки состояния антиэндотоксинового иммунитета в отношении грамотрицательных бактерий («ЛПС-тест-ИФА»)*. Патент РФ 2088936; 1994.
16. Зинкевич О.Д., Аниховская И.А., Сафина Н.А., Крупник А.Н., Салахов И.М., Уразаев Р.А., Хабриев Р.У., Яковлев М.Ю. *Способ определения активности эндотоксина (варианты)*. Патент РФ 2169367; 2000.
17. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека. *Физиология человека*. 2003; 29(4): 98-109.
18. Яковлев М.Ю., Крупник А.Н., Бондаренко Е.В. *Диагностическая информативность иммуноморфологической идентификации эндотоксин-положительных гранулоцитов в клинике и эксперименте. Актуальные вопросы теоретической и прикладной инфекционной иммунологии, механизмы противои инфекционного иммунитета*. М.: Медицина, 1987. 127-128 с.
19. Яковлев М.Ю. Роль кишечной микрофлоры и недостаточность барьерной функции печени в развитии эндотоксинемии и воспаления. *Казанский медицинский журнал*. 1988; 5: 353-358.

20. Салахов И.М., Аниховская И.А., Майский И.А., Маркелова М.М., Окорочков П.Л., Хасанова Г.Р., Юркин В.А. Нормативные показатели системной эндотоксинемии как базисный элемент определения роли липополисахаридов кишечной микрофлоры в общей патологии. *Патогенез*. 2015; 13(1): 18-27.
21. Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Майский И.А., Салахов И.М. Направления поиска средств снижения концентрации эндотоксина в общей гемодинамике. *Патогенез*. 2014; 14(4): 25-30.
22. Medzhitov R., Janeway C.A.Jr. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* 1997; 9: 4-9.
23. Medzhitov R., Janeway C.A.Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997; 91(3): 295-298.
24. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997; 388: 394-397.
25. West A.P., Koblansky A.A., Gosh S. Recognition and Signaling by Toll-like Receptors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2006; 22: 409-437. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.122303.115827
26. Вышегуров Я.Х., Аниховская И.А., Батманов Ю.Е., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин в патогенезе воспалительной патологии глаза и антиэндотоксиновая составляющая её лечения. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2007; 1: 12-14.
27. Вышегуров Я.Х., Аниховская И.А., Расческов А.Ю., Усов И.А., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая агрессия как облигатный фактор патогенеза иридоциклитов различного происхождения и её этиология. *Физиология человека*. 2006; 6: 109-113.
28. Вышегуров Я.Х., Закирова Д.З., Расческов А.Ю., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как облигатный фактор патогенеза эндогенных иридоциклитов и эндофтальмитов неясной этиологии. *Новые лечебно-диагностические технологии. Книга 1*. Московские учебники – СидиПресс; 2006. 133 с.
29. Yakovlev M. Elements of Endotoxin Theory of Human Physiology and Pathology: «Systemic Endotoxemia», «Endotoxin Aggression», «Endotoxin Insufficiency»? *J. Endotoxin Res.* 2000; 6(2): P188.
30. Яковлев М.Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных. *Успехи современной биологии*. 2003; 123(1): 31-40.
31. Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Хасанова Г.Р., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновый компонент патогенеза хронических вирусных инфекций. *Физиологии человека*. 2015; 41(3): 118-126. DOI: 10.7868/80131164615030029
32. Чижиков Н.В., Лиходед В.Г., Светухин А.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин в клинике и патогенезе хронической ишемии нижних конечностей. Пенза, 2002. 169 с.
33. Энукидзе Г.Г., Аниховская И.А., Марачев А.А., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая агрессия в патогенезе хронических воспалительных заболеваний органов малого таза или антиэндотоксиновое направление их лечения. *Физиология человека*. 2006; 32(3): 117-123.
34. Окорочков П.Л., Аниховская И.А., Волков И.Э., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин в индукции сахарного диабета 1 типа. *Физиология человека*. 2011; 37(2): 138-141.
35. Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин и воспаление. В кн.: Дерматовенерология. Национальное руководство. Краткое издание. М: Медицина, 2013: 70-76.
36. Гордиенко А.И. Показатели антиэндотоксинового иммунитета у здоровых людей с различной базовой концентрацией С-реактивного белка. *Патогенез*. 2012; 14(3): 65-70.
37. Гордиенко А.И., Белоглазов В.Н., Кубышкин А.В. Дисбаланс показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета и низкоинтенсивное воспаление при сахарном диабете 1 и 2 типа. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 60(3): 61-67. DOI: 10.25557/0031-2991.2016.03.61-67
38. Гордиенко А.И., Кубышкин А.В., Гордиенко А.И., Кубышкин В.А. Нарушения антиэндотоксиновой защиты у больных лейкоемией и миелодиспластическим синдромом. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(3): 83-90. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.83-90
39. Окорочков П.Л. Алиментарный фактор как вероятный индуктор воспаления или липидный компонент механизма транспорта кишечного эндотоксина. *Физиология человека*. 2012; 38(6): 105-112.
40. Маркелова М.М., Рюмина И.И., Салахов И.М., Яковлев М.Ю. Системная эндотоксинемия и показатели жирового обмена у новорожденных детей: одномоментное исследование. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(3): 91-96. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.91-96
41. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и общего адаптационного синдрома. *Физиология человека*. 2006; 32(2): 87-92.
42. Яковлев М.Ю., Лиходед В.Г., Аниховская И.А., Конев Ю.В., Пермяков Н.К. Эндотоксин индуцированное повреждение эндотелия. *Архив патологии*. 1996; 2: 3-9.
43. Савельев В.С. Липидный дистресс-синдром в хирургии. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 1999; 1: 36-39.
44. Савельев В.С., Петухов В.А., Каралкин А.В., Сон Д.А., Подачин П.В., Романенко К.В., Иванов В.В. Синдром кишечной недостаточности в urgentной абдоминальной хирургии: новые методические подходы к лечению. *Трудный пациент*. 2005; 4: 2-10.
45. Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая теория атеросклероза. *Физиология человека*. 2015; 41(1): 106-116.
46. Аниховская И.А., Голышев И.С., Тенблоев К.И., Яковлев М.Ю. Роль эндотоксиновой агрессии в патогенезе острого инфаркта миокарда. *Физиология человека*. 2014; 40(3): 129-132.
47. Аниховская И.А., Кубатиев А.А., Салахов И.М., Теблоев К.И., Яковлев М.Ю. Динамика концентрации эндотоксина в сыворотке крови у больных острым неосложнённым Q-инфарктом миокарда. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015; 59(3): 55-61. DOI: 10.25557/0031-2991.2015.03.55-61
48. Хорошилов С.Е., Карпун Н.А., Половников С.Г., Никулин А.В., Кузовлев А.Н. Селективная гемосорбция эндотоксина в лечении абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология*. 2009; 6: 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83
49. Cavaillon J.M. Polymyxin B for endotoxin removal in sepsis. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11(6): 426-427. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70131-1
50. Зулкарнаев А.Б., Крстич М., Ватазин А.В., Губарев К.К. Современный этиопатогенетический подход к лечению гнойно-септических осложнений после трансплантации почки. *Медицинский альманах*. 2013; 5: 161-164.
51. Nikodemova M., Small A.L., Kimyon R.S., Watters J.J. Age-dependent differences in microglial responses to systemic inflammation are evident as early as middle age. *Physiol. Genomics*. 2016; 48(5): 336-344. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00129.2015
52. Аниховская И.А., Салахов И.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин и стресс в адаптации и старении. *Вестник Российской академии естественных наук*. 2016; 1: 19-24.
53. Аниховская И.А., Двоеносов В.Г., Жданов Р.И., Кубатиев А.А., Майский И.А., Маркелова М.М., Мешков М.В., Опарина О.Н., Салахов И.М., Яковлев М.Ю. Психоэмоциональный стресс как клиническая модель начальной фазы общего адаптационного синдрома. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015; 59(4): 87-92. DOI: 10.25557/0031-2991.2015.04.87-92
54. Аниховская И.А., Вышегуров Я.Х., Усов И.А., Яковлев М.Ю. Бифидумбактерии как средство профилактики и лечения «эндотоксиновой агрессии» у пациентов с хроническими заболеваниями в стадиях ремиссии и обострения. *Физиология человека*. 2004; 30(6): 125-127.
55. Иванов В.Б., Яковлев М.Ю., Аниховская И.А., Савельев А.А., Гатауллин Ю.К. Чернихова Е.А., Закирова Д.З. Энтеросорбция как важное средство устранения хронической эндотоксиновой агрессии. *Физиология человека*. 2007; 33(3): 135-136.
56. Jolma A., Kivioja T., Toivonen J., Cheng L., Wei G., Enge M., Taipale M., Vaquerizas J.M., Yan J., Sillanpää M.J., Bonke M., Palin K., Talukder S., Hughes T.R., Luscombe N.M., Ukkonen E., Taipale J. Multiplexed massively parallel SELEX for characterization of human transcription factor binding specificities. *Genome Res.* 2010; 861-873. DOI: 10.1101/gr.100552.109
57. Shi S., Yu X., Gao Y., Xue B., Wu X., Wang X., Yang D., Zhu H. Inhibition of Hepatitis C Virus Production by Aptamers against

- the Core Protein. *J. Virol.* 2014; 88(4): 1990-1999. DOI: 10.1128/JVI.03312-13
58. Malsagova K.A., Pleshakova T.O., Galiullin R.A., Kaysheva A.L., Shumov I.D. Ultrasensitive nanowire-based detection of HCVcoreAg in the serum using a microwave generator. *Analytical Methods*. 2018; DOI: 10.1039/c8ay00495a
 59. Ivanov Y.D., Bukharina N.S., Pleshakova T.O., Frantsuzov P.A., Andreeva E.Yu., Kaysheva A.L., Zgoda V.G., Izotov A.A., Pavlova T.I., Ziborov V.S., Radko S.P., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. Atomic force microscopy fishing and mass spectrometry identification of gp120 on immobilized aptamers. *Int. J. Nanomedicine*. 2014; 9: 4659-4670. DOI: 10.2147/IJN.S66946
 60. Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Kozlov A.F., Archakov A.I., Popov V.P., Fomin B.I., Latyshev A.V., A SOI-nanowire biosensor for the multiple detection of D-NFATc1 protein in the serum. *Analytical Methods*. 2015; 7(19): 8078-8085.
 61. Iliuk A.B., Hu L., Tao W.A. Aptamer in bioanalytical applications. *Anal. Chem.* 2011; 83(12): 4440-4452. DOI: 10.1021/ac201057w
 62. Gold L., Brown D., He Y., Shtatland T., Singer B. S., Wu Y. From oligonucleotide shapes to genomic SELEX: novel biological regulatory loops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997; 94(1): 59-64. DOI: 10.1073/pnas.94.1.59
 63. Hermann T., Patel D.J. Adaptive recognition by nucleic acidaptamers. *Science*. 2000; 287(5454): 820-825.
 64. Samimi E., Karami P., Ahar M.J. A Review on Aptamer-Conjugated Quantum Dot Nanosystems for Cancer Imaging and Theranostic. *J. Nanomed. Res.* 2017; 5(3): 117. DOI: 10.15406/jnmr.2017.05.00117
 65. Zheng Y., Qu J., Xue F., Zheng Y., Yang B., Chang Y., Yang H., Zhang J. Novel DNA Aptamers for Parkinson's Disease Treatment Inhibit α -Synuclein Aggregation and Facilitate its Degradation. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2018; 11: 228-242. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.02.011
 66. Mathew A., Aravind A., Brahatheeswaran D., Fukuda T., Nagaoaka Y., Hasumura T., Iwai S., Morimoto H., Yoshida Y., Maekawa T., Venugopal K., Kuma D. Amyloid-Binding Aptamer Conjugated Curcumin-PLGA Nanoparticle for Potential Use in Alzheimer's Disease. *BioNanoScience*. 2012; 2(2): 83-93.
 67. Strauss S., Nickels P.C., Strauss M.T. Modified aptamers enable quantitative sub-10-nm cellular DNA-PAINT imaging. *Nature Methods*. 2018; 15: 685-688. DOI: 10.1038/s41592-018-0105-0
 68. Акмаев Э.Г., Александров А.С., Алчинова И.Б., Бочаров Е.В., Карганов М.Ю., Крыжановский Г.Н., Кучеряну В.Г., Магаева С.В., Морозов С.Г., Носкин Л.А., Панфилов Д.Н., Пшенникова М.Г., Сарманаев С.Х., Сепиашвили Р.И., Слюч Н.И., Фисун А.Я., Чувин Б.Т. Санология / Под ред.: А.А. Кубатиева, В.Б. Симоненко. М.: Наука, 2014. 285 с.
- ## References
1. Pfeiffer R. Untersuchungen uber das Choleragift. *Z. Hygiene*. 1882; 11: 393-412.
 2. Centanni E. Uber Infektionsfieber. *Chem. Zentr.* (4-th Series). 1884; 6: 597.
 3. Coley W.B. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. *Am. J. Med. Sci.* 1883; 105: 487-511.
 4. Shear M.J., Turner F.C. Chemical treatment to tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 1943; 4: 81-97.
 5. Westphal O., Luderitz O. Chemische und biologische Analyse hochgereinigter Bacterienpolysaccharide. *Deutsch Med. Wochenschr.* 1953; 2: 17-19.
 6. Rabi K. [Localized and disseminated intravascular coagulation]. M: Medicine, 1974. 215 p. (in Russian)
 7. Morrison D.C., Ryan J.I. Bacterial endotoxins and host immune responses. *Adv. Immunol.* 1979; 28: 293-450.
 8. Yakovlev M.Yu. [Myocardial morphology with endotoxin shock]. *Arkhiv patologii [Archives of pathology]*. 1985; 7: 34-41. (in Russian)
 9. Yakovlev M.Yu. [Endotoxin shock]. *Kazanskii meditsinskii zhurnal [Kazan Medical Journal]*. 1987; 3: 207-211. (in Russian)
 10. Freudenberg N. Reactions of the vascular intima to endotoxin shock. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989; 308: 77-89.
 11. Meshkov M.V., Gataullin Yu.K., Ivanov V.B., Yakovlev M.Yu. [Endotoxin aggression as a cause of postoperative complications in pediatric surgery (new prospects for prevention). *New medical and diagnostic technologies. Volume 2]*. M.: Moscow textbooks – SiDiPress, 2007. 144 p. (in Russian)
 12. Yakovlev M.Yu. [Intestinal lipopolysaccharide: systemic endotoxemia – endotoxin aggression – SIR – syndrome and multiple organ failure, as links in one chain]. *Volgogradskii nauchno-meditsinskii zhurnal [Volgograd Scientific Medical Journal]*. 2005; 1: 15-18. (in Russian)
 13. Yakovlev M.Yu. [Memories of the best or the origins of the endotoxin theory]. In: Actual problems of general pathology. Anniversary scientific-practical conference. Kazan, 2015. 68-79. (in Russian)
 14. Urazaev R.A., Yakovlev M.Yu., Anikhovskaya I.A., Krupnik A.N., Sudzhyan E.V., Gataullina R.I., Gataullin Yu.K. [Method for assessing body resistance (SOIS-IFA)]. Patent 2011913, RF; 1994. (in Russian)
 15. Lihod V.G., Yakovlev M.Yu., Apollonin A.V., Kozlova N.N., Kudryavcev A.E., Yushuk N.D. [The method of assessing the state of antiendotoxin immunity against gram-negative bacteria ("LPS-test ELISA")]. Patent 2088936, RF; 1994. (in Russian)
 16. Zinkevich O.D., Anikhovskaya I.A., Safina N.A. Krupnik A.N., Salahov I.M., Urazaev R.A., Habriev R.U., Yakovlev M.Yu. [The method of determining the activity of endotoxin (options)]. Patent 2169367, RF; 2000. (in Russian)
 17. Yakovlev M.Yu. [Elements of the endotoxin theory of human physiology and pathology]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2003; 29 (4): 98-109. (in Russian)
 18. Yakovlev M.Yu., Krupnik A.N., Bondarenko E.V. [Diagnostic informational content of immunomorphological identification of endotoxin-positive granulocytes in the clinic and experiment. *Topical issues of theoretical and applied infectious immunology, mechanisms of anti-infective immunity*]. M. Medicine, 1987. 127-128 p. (in Russian)
 19. Yakovlev M.Yu. [The role of intestinal microflora and insufficiency of the barrier function of the liver in the development of endotoxemia and inflammation]. *Kazanskii meditsinskii zhurnal [Kazan Medical Journal]*. 1988; 5: 353-358. (in Russian)
 20. Salakhov I.M., Anikhovskaya I.A., Maysky I.A., Markelova M.M., Okorokov P.L., Khasanova G.R., Yurkiv V.A. [Regulatory indicators of systemic endotoxemia as a basic element for determining the role of intestinal microflora lipopolysaccharides in general pathology]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2015; 13 (1): 18-27. (in Russian)
 21. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Maysky I.A., Salakhov I.M. [Directions of search for means of reducing the concentration of endotoxin in the general hemocirculation]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2014; 4: 25-30. (in Russian)
 22. Medzhitov R., Janeway C.A.Jr. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* 1997; 9: 4-9.
 23. Medzhitov R., Janeway C.A.Jr. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell*. 1997; 91(3): 295-298.
 24. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997; 388: 394-397.
 25. West A.P., Koblansky A.A., Gosh S. Recognition and Signaling by Toll-like Receptors. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2006; 22: 409-437. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.122303.115827
 26. Vyshegurov Ya.Kh., Anikhovskaya I.A., Batmanov Yu.E., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin in the pathogenesis of inflammatory pathology of the eye and the antiendotoxin component of its treatment]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2007; 1: 12-14. (in Russian)
 27. Vyshegurov Ya.Kh., Anikhovskaya I.A., Rascheskov A.Yu., Usov I.A., Yakovlev M.Yu. [Endotoxin aggression as an obligate factor in the pathogenesis of iridocyclitis of various origins and its etiology]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2006; 6: 109-113. (in Russian)
 28. Vyshegurov Ya.H., Zakirova D.Z., Rascheskov A.Yu., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin as an obligate factor in the pathogenesis of endogenous iridocyclitis and endophthalmitis of unknown etiology. *New medical and diagnostic technologies. Book 1]*. Moscow textbooks – SeaDiPress, 2006. 133 p. (in Russian)
 29. Yakovlev M. Elements of Endotoxin Theory of Human Physiology and Pathology: «Systemic Endotoxemia», «Endotoxin Aggression», «Endotoxin Insufficiency»? *J. Endotoxin Res.* 2000; 6(2): P188.
 30. Yakovlev M.Yu. [“Endotoxin aggression” as a pre-disease or uni-

- versal pathogenesis factor of human and animal diseases]. *Uspekhi sovremennoi biologii [Successes of modern biology]*. 2003; 123 (1): 31-40. (in Russian)
31. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Khasanova G.R., Yakovlev M.Yu. [Endotoxin component of the pathogenesis of chronic viral infections]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2015; 41(3): 118-126. DOI: 10.7868/80131164615030029 (in Russian)
 32. Chizhikov N.V., Likhoded V.G., Svetukhin A.M., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin in the clinic and the pathogenesis of chronic lower limb ischemia]. Penza, 2002. 169 p. (in Russian)
 33. Enukidze G.G., Anikhovskaya I.A., Marachev A.A., Yakovlev M.Yu. [Endotoxin aggression in the pathogenesis of chronic inflammatory diseases of the pelvic organs or anti-endotoxin direction of their treatment]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2006; 32 (3): 117-123. (in Russian)
 34. Okorokov P.L., Anikhovskaya I.A., Volkov I.E., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin in the induction of type 1 diabetes mellitus]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2011; 37(2): 138-141. (in Russian)
 35. Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin and inflammation]. In: Dermatovenereology. National leadership. Brief edition. M.: Medicine, 2013: 70-76 p. (in Russian)
 36. Gordienko A.I. [Indicators of antiendotoxin immunity in healthy people with different basic concentrations of C-reactive protein]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2012; 14 (3): 65-70. (in Russian)
 37. Gordienko A.I., Beloglazov V.N., Kubyshkin A.V. [An imbalance in the indices of humoral antiendotoxin immunity and low-intensity inflammation in diabetes mellitus type 1 and 2]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2016; 60(3): 61-67. DOI: 10.25557/0031-2991.2016.03.61-67 (in Russian)
 38. Gordienko A.I., Kubyshkin A.V., Gordienko A.I., Kubyshkin V.A. [Antiendotoxin protection disorders in patients with leukemia and myelodysplastic syndrome]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2017; 61(3): 83-90. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.83-90 (in Russian)
 39. Okorokov P.L. [Alimentary factor as a probable inducer of inflammation or a lipid component of the transport mechanism of intestinal endotoxin]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2012; 38 (6): 105-112. (in Russian)
 40. Markelova M.M., Ryumina I.I., Salakhov I.M., Yakovlev M.Yu. [Systemic endotoxemia and fat metabolism in newborns: a one-time study]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2017; 61(3): 91-96. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.91-96 (in Russian)
 41. Anikhovskaya I.A., Oparina O.N., Yakovleva M.M., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin as a universal factor of adaptation and general adaptation syndrome]. *Fiziologiya cheloveka. [Human physiology]*. 2006; 32 (2): 87-92. (in Russian)
 42. Yakovlev M.Yu., Likhoded V.G., Anikhovskaya I.A., Konev Yu.V., Permyakov N.K. [Endotoxin induced damage to the endothelium]. *Arkhiv patologii [Pathology Archive]*. 1996; 2: 3-9. (in Russian)
 43. Saveliev V.S. [Lipid distress syndrome in surgery]. *Vestnik Rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii [Bulletin of the Russian Military Medical Academy]*. 1999; 1: 36-39. (in Russian)
 44. Saveliev V.S., Petukhov V.A., Karalkin A.V., Son D.A., Podachin P.V., Romanenko K.V., Ivanov V.V. [Intestinal Failure Syndrome in Urgent Abdominal Surgery: New Methodological Approaches to Treatment]. *Trudnyi patsiyent [Difficult patient]*. 2005; 4: 2-10. (in Russian)
 45. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Yakovlev M.Yu. [Endotoxin theory of atherosclerosis]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2015; 41(1): 106-116. (in Russian)
 46. Anikhovskaya I.A., Golyshev I.S., Tenbloev K.I., Yakovlev M.Yu. [The role of endotoxin aggression in the pathogenesis of acute myocardial infarction]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2014; 40 (3): 129-132. (in Russian)
 47. Anikhovskaya I.A., Kubatiev A.A., Salakhov I.M., Tebloev K.I., Yakovlev M.Yu. [Dynamics of endotoxin concentration in serum in patients with acute uncomplicated Q-myocardial infarction]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2015; 59(3): 55-61. DOI: 10.25557/0031-2991.2015.03.55-61 (in Russian)
 48. Khoroshilov S.E., Karpun N.A., Polovnikov S.G., Nikulin A.V., Kuzovlev A.N. [Selective hemosorption of endotoxin in the treatment of abdominal sepsis]. *Obshchaya reanimatologiya [General resuscitation]*. 2009; 6: 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83 (in Russian)
 49. Cavillon J.M. Polymyxin B for endotoxin removal in sepsis. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(6): 426-427. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70131-1
 50. Zulkarnaev A.B., Krstic M., Vatazin A.V., Gubarev K.K. [Modern etiopathogenetic approach to the treatment of purulent-septic complications after kidney transplantation]. *Meditsinskii al'manakh [Medical Almanac]*. 2013; 5: 161-164. (in Russian)
 51. Nikodemova M., Small A.L., Kimyon R.S., Watters J.J. Age-dependent differences in microglial responses to systemic inflammation are evident as early as middle age. *Physiol. Genomics*. 2016; 48(5): 336-344. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00129.2015
 52. Anikhovskaya I.A., Salakhov I.M., Yakovlev M.Yu. [Intestinal endotoxin and stress in adaptation and aging]. *Vestnik Rossijskoj akademii estestvennykh nauk [Bulletin of the Russian Academy of Natural Sciences]*. 2016; 1: 19-24. (in Russian)
 53. Anikhovskaya I.A., Dvoenoso V.G., Zhdanov R.I., Kubatiev A.A., Mayskiy I.A., Markelova M.M., Meshkov M.V., Oparina O.N., Salakhov I.M., Yakovlev M.Yu. [Psychoemotional stress as a clinical model of the initial phase general adaptation syndrome]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2015; 59(4): 87-92. DOI: 10.25557/0031-2991.2015.04.87-92 (in Russian)
 54. Anikhovskaya I.A., Vyshegurov Y.H., Usov IA, Yakovlev M.Yu. [Bifidumbacteria as a means of preventing and treating "endotoxin aggression" in patients with chronic diseases in stages of remission and exacerbation]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2004; 30(6): 125-127. (in Russian)
 55. Ivanov V.B., Yakovlev M.Yu., Anikhovskaya I.A., Saveliev A.A., Gataullin Yu.K., Chernikova E.A., Zakirova D.Z. [Enterosorption as an important means of eliminating chronic endotoxin aggression]. *Fiziologiya cheloveka [Human physiology]*. 2007; 33(3): 135-136. (in Russian)
 56. Jolma A., Kivioja T., Toivonen J., Cheng L., Wei G., Enge M., Taipale M., Vaquerizas J.M., Yan J., Sillanpää M.J., Bonke M., Palin K., Talukder S., Hughes T.R., Luscombe N.M., Ukkonen E., Taipale J. Multiplexed massively parallel SELEX for characterization of human transcription factor binding specificities. *Genome Res*. 2010; 861-873. DOI: 10.1101/gr.100552.109
 57. Shi S., Yu X., Gao Y., Xue B., Wu X., Wang X., Yang D., Zhu H. Inhibition of Hepatitis C Virus Production by Aptamers against the Core Protein. *J. Virol*. 2014; 88(4): 1990-1999. DOI: 10.1128/JVI.03312-13
 58. Malsagova K.A., Pleshakova T.O., Galiullin R.A., Kaysheva A.L., Shumov I.D. Ultrasensitive nanowire-based detection of HCVcoreAg in the serum using a microwave generator. *Analytical Methods*. 2018; DOI: 10.1039/c8ay00495a
 59. Ivanov Y.D., Bukharina N.S., Pleshakova T.O., Frantsuzov P.A., Andreeva E.Yu., Kaysheva A.L., Zgoda V.G., Izotov A.A., Pavlova T.I., Ziborov V.S., Radko S.P., Moshkovskii S.A., Archakov A.I. Atomic force microscopy fishing and mass spectrometry identification of gp120 on immobilized aptamers. *Int. J. Nanomedicine*. 2014; 9: 4659-4670. DOI: 10.2147/IJN.S66946
 60. Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Kozlov A.F., Archakov A.I., Popov V.P., Fomin B.I., Latyshev A.V. A SOI-nanowire biosensor for the multiple detection of D-NFATc1 protein in the serum. *Analytical Methods*. 2015; 7(19): 8078-8085.
 61. Iliuk A.B., Hu L., Tao W.A. Aptamer in bioanalytical applications. *Anal. Chem*. 2011; 83(12): 4440-4452. DOI: 10.1021/ac201057w
 62. Gold L., Brown D., He Y., Shtatland T., Singer B. S., Wu Y. From oligonucleotide shapes to genomic SELEX: novel biological regulatory loops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997; 94(1): 59-64. DOI: 10.1073/pnas.94.1.59
 63. Hermann T., Patel D.J. Adaptive recognition by nucleic acidaptamers. *Science*. 2000; 287(5454): 820-825.
 64. Samimi E., Karami P., Ahar M.J. A Review on Aptamer-Conjugated Quantum Dot Nanosystems for Cancer Imaging and Theranostic. *J. Nanomed. Res*. 2017; 5(3): 117. DOI: 10.15406/jnmr.2017.05.00117
 65. Zheng Y., Qu J., Xue F., Zheng Y., Yang B., Chang Y., Yang H., Zhang J. Novel DNA Aptamers for Parkinson's Disease Treatment Inhibit

- a-Synuclein Aggregation and Facilitate its Degradation. *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2018; 11: 228-242. DOI: 10.1016/j.omtn.2018.02.011
66. Mathew A., Aravind A., Brahatheeswaran D., Fukuda T., Nagao-ka Y., Hasumura T., Iwai S., Morimoto H., Yoshida Y., Maekawa T., Venugopal K., Kuma D. Amyloid-Binding Aptamer Conjugated Curcumin-PLGA Nanoparticle for Potential Use in Alzheimer's Disease. *BioNanoScience*. 2012; 2(2): 83-93.
67. Strauss S., Nickels P.C., Strauss M.T. Modified aptamers enable quantitative sub-10-nm cellular DNA-PAINT imaging. *Nature Methods*. 2018; 15: 685-688. DOI: 10.1038/s41592-018-0105-0
68. Akmaev E.G., Aleksandrov A.S., Alchinova I.B., Bocharov E.V., Karganov M.Yu., Kryzhanovskij G.N., Kucheryanu V.G., Magaeva S.V., Morozov S.G., Noskin L.A., Panfilov D.N., Pshennikova M.G., Sarmanaev S.H., Sepiashvili R.I., Syuch N.I., Fisun A.YA., CHuvin B.T. [Sanologiya] / Ed. A.A. Kubatiev, V.D. Simonenko. M.: Nauka, 2014, 285 p. (in Russian)

Сведения об авторах:

Аниховская Ирина Альфредовна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории системной эндотоксинемии и шока Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; главный врач ООО «Клинико-диагностическое общество»

Белоглазов Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины №2 Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Гордиенко Андрей Иванович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией клинической иммунологии медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Иванов Юрий Дмитриевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией нанотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича»

Кубышкин Анатолий Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Медицинской академии имени С.И.Георгиевского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»

Маркелова Марина Михайловна – научный сотрудник лаборатории системной эндотоксинемии и шока Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Покусаева Дарья Павловна – аспирант лаборатории системной эндотоксинемии и шока Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; врач ультразвуковой диагностики ООО «Клинико-диагностическое общество»

Яковлев Михаил Юревич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией системной эндотоксинемии и шока Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; генеральный директор ООО «Клинико-диагностическое общество»; профессор кафедры патологической анатомии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 616-092

Катехоламины как медиаторы нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе

Мельников М.В.^{1,2}, Бойко А.Н.¹, Пащенко М.В.², Гусев Е.И.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России. 115522, Москва, Каширское шоссе, д. 24

Исследование нейроиммунных взаимодействий является одним из наиболее развивающихся направлений в изучении патогенеза рассеянного склероза. Механизмы этого взаимодействия до конца не ясны. Полагают, что ключевое значение в регуляции этого взаимодействия может принадлежать нейротрансмиттерам. Наибольшее внимание привлекают катехоламины, в частности, дофамин и норадреналин, рецепторы к которым экспрессируют клетки как нервной, так иммунной систем. Установлено, что модулируя функции иммунокомпетентных клеток дофамин и норадреналин способны влиять на течение как экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита, так и рассеянного склероза. В работе представлен обзор литературы и собственных данных о значении дофамина и норадреналина в регуляции взаимодействия нервной и иммунной систем при рассеянном склерозе. Обсуждаются возможные механизмы, опосредующие влияние дофамина и норадреналина на патогенез рассеянного склероза, в частности, влияние дофамина и норадреналина на функционирование Th17-клеток, а также на опосредованный дендритными клетками Th17-зависимый иммунный ответ, играющий одну из ключевых патогенетических ролей при рассеянном склерозе.

Ключевые слова: рассеянный склероз; катехоламины; Th17-клетки; дендритные клетки.

Для цитирования: Мельников М.В., Бойко А.Н., Пащенко М.В., Гусев Е.И. Катехоламины как медиаторы нейроиммунного взаимодействия при рассеянном склерозе. *Патогенез*. 2019; 17(1): 18-25

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.18-25

Для корреспонденции: Мельников Михаил Валерьевич, e-mail: medikms@yandex.ru.

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 08.10.2018

Catecholamines as mediators of the neuroimmune interaction in multiple sclerosis

Melnikov M.V.^{1,2}, Boyko A.N.¹, Pashenkov M.V.², Gusev E.I.¹

¹ N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovityanova Str. 1, Moscow 117997, Russian Federation

² National Research Center Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia. Kashirskoye Shosse 24, Moscow 115478, Russian Federation

The neuroimmune interaction is one of fast developing directions in studying the pathogenesis of multiple sclerosis. The mechanism of this interaction is not sufficiently understood. The key role in regulation of this interaction is assumed to belong to neurotransmitters, among which catecholamines, specifically dopamine and norepinephrine, attract the greatest attention. Cells of both nervous and immune systems express dopaminergic and noradrenergic receptors. Dopamine and norepinephrine can influence the course of experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis by modulating functions of immune cells. This review presents literature and authors' own data on the role of dopamine and norepinephrine in regulation of the nervous and immune system interaction in multiple sclerosis and focuses on possible mechanisms mediating the effect of dopamine and norepinephrine on the pathogenesis of multiple sclerosis, particularly the effect of dopamine and norepinephrine on the Th17 cell function and the dendritic cell-mediated Th17 immune response that plays a key role in the pathogenesis of multiple sclerosis.

Key words: multiple sclerosis; catecholamines; Th17-cells; dendritic cells.

For citation: Melnikov M.V., Boyko A.N., Pashenkov M.V., Gusev E.I. [Catecholamines as mediators of neuroimmune interaction in multiple sclerosis]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 18-25 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.18-25

For correspondence: Melnikov Mikhail Valerievich, e-mail: medikms@yandex.ru.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 08.10.2018

Введение

Рассеянный склероз (РС) – хроническое воспалительное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы (ЦНС) с аутоиммунным механизмом развития и ранним началом нейродегенеративных изменений [1]. РС является одной из наиболее сложных и социально значимых проблем в современной неврологии, что определяется широкой распространенностью, постоянной тенденцией к росту заболеваемости, а также, при отсутствии адекватного патогенетического лечения, тяжелой инвалидизацией больных РС, представляющих собой преимущественно молодых людей, ведущих активную социальную деятельность [2]. По данным ВОЗ, среди неврологических заболеваний РС является наиболее распространенной причиной стойкой нетрудоспособности у молодых людей, особенно у женщин [3].

Несмотря на появление все большего количества препаратов патогенетической терапии РС, лечение таких больных остается одной из наиболее актуальных задач практической неврологии. Основу современных эффективных препаратов для лечения РС, преимущественно, составляют иммуносупрессоры и иммуномодуляторы, которые позволяют достоверно снизить активность заболевания. Однако назначение сильных препаратов сопряжено с высоким риском развития серьезных побочных эффектов, в частности, с развитием выраженного иммунодефицитного состояния, оппортунистических инфекций и др. [4]. Немаловажным вопросом остается высокая стоимость такой терапии [5].

В связи с этим, одной из наиболее актуальных и главных задач в разработке новых методов терапии РС является создание препаратов, обладающих, с одной стороны, высокой эффективностью, с другой – приемлемым профилем переносимости и безопасности. Такая задача может быть решена при разработке препаратов, способных направленно регулировать выраженность иммунного ответа непосредственно в центральной нервной системе (ЦНС), не оказывая при этом влияние на периферическую иммунную систему. Среди медиаторов, способных регулировать нейроиммунное взаимодействие в ЦНС, наибольшее внимание привлекает дофамин (ДА), который, с одной стороны, опосредует множество эффектов в ЦНС, с другой – способен оказывать модулирующее действие на клетки как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа [6].

Роль Th17-клеток в иммунопатогенезе РС

Основной гипотезой иммунопатогенеза РС является положение о нарушении иммунологической толерантности и активном проникновении через гематоэнцефалический барьер в ткань мозга аутореактивных эффекторных иммунных клеток, сенсбилизированных к антигенам миелина. Исследования последних 10 лет показали, что Т-хелперы 17-го типа (Th17-клетки) могут играть существенную роль в патогенезе РС [7]. Th17-клетки вырабатывают цитоки-

ны: интерлейкин-17 (ИЛ-17), ИЛ-21, ИЛ-22, гранулоцитарный, а также гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы (Г-КСФ и ГМ-КСФ) [8]. Иммунный ответ по Th17-типу носит, как правило, воспалительный и аутоагрессивный характер, в связи с чем, предполагается критическая патогенетическая роль этого ответа при ряде аутоиммунных заболеваний, включая РС [9].

Th17-клетки дифференцируются из наивных Т-клеток или Т-клеток памяти при участии цитокинов – трансформирующего ростового фактора-бета (TGF-β), ИЛ-6, ИЛ-1β и ИЛ-23 [10]. По данным литературы, TGF-β и ИЛ-6 регулируют ранние этапы дифференцировки, тогда как ИЛ-1β и, в особенности, ИЛ-23 регулируют более поздние этапы развития и необходимы для приобретения Th17-клетками способности продуцировать цитокины [10].

В условиях экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита, индуцированного адаптивным переносом Т-клеток, Th17-клетки вызывают поражение ЦНС наиболее соответствующее РС (очаги формируются преимущественно в головном мозге) [11]. Показано, что активное течение РС сопровождается повышением количества циркулирующих Th17-клеток в периферической крови, по сравнению с неактивным течением или группой контроля (здоровые лица) [7, 11]. В то же время нейтрализация ИЛ-17 моноклональными антителами оказывает положительное влияние на течение экспериментальных моделей различных аутоиммунных заболеваний [12, 13]. Также установлено, что большинство препаратов патогенетической терапии РС прямо или опосредованно модулируют Th17-зависимый иммунный ответ, с чем может быть связана их клиническая эффективность. Таким образом, Th17-клетки рассматриваются как одна из наиболее важных мишеней для патогенетической терапии РС [14-17].

Участие дендритных клеток в иммунопатогенезе РС

Несмотря на то, что эффекторная стадия иммунопатологического процесса при РС в настоящее время в целом достаточно изучена, этиология, а также механизмы запуска и поддержания аутоиммунного воспалительного процесса при РС остаются неясными, что ограничивает возможности терапии и делает невозможным выявление субклинических форм и снизить частоту заболеваемости.

По существующим представлениям, ключевую роль в активации и регуляции Т-клеточного ответа играют антигенпрезентирующие клетки (АПК), среди которых наиболее значимы дендритные клетки (ДК), обладающие уникальной способностью активировать наивные CD4⁺-Т-клетки, а также направлять их дифференцировку в определенные субпопуляции, включая Th17-клетки [18]. Данные *in vitro* и *in vivo* указывают на ключевое значение ДК в запуске аутоиммунного воспаления [19, 20]. Так, продуцируя ИЛ-23, ДК способны направлять иммунный ответ по Th17-зависимому пути и, таким образом, участво-

вать в патогенезе экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита и РС [21-23]. Установлено, что мыши, нокаутные по ИЛ-23, полностью резистентны к экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту [24]. С модуляцией функций ДК может быть связана клиническая эффективность некоторых препаратов патогенетической терапии РС [25, 26]. Изучение сигнальных путей, метаболического репрограммирования в ДК с целью модуляции их функций, является одним из наиболее перспективных направлений в терапии аутоиммунных заболеваний, включая РС [27, 28].

Недавнее обнаружение ДК в ЦНС, а также путей сообщения между ЦНС и глубокими шейными лимфатическими узлами посредством лимфатической системы и лимфатических сосудов твердой мозговой оболочки значительно повысило интерес к ДК, как к наиболее вероятным кандидатам на роль первичных инициаторов аутоиммунного воспаления в ЦНС [29-31].

Таким образом, ось «ДК – Th17» может иметь критическое значение в патогенезе РС, в связи с чем, поиск новых путей модуляции опосредованного ДК Th17-зависимого иммунного ответа является важным направлением в разработке новых методов терапии РС.

Влияние ДА на Th17-зависимый иммунный ответ при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите и РС

Биогенные амины, рецепторы к которым экспрессируются на клетках как нервной, так и иммунной систем, являются прямыми медиаторами нейроиммунного взаимодействия при РС. С изменением активности нейротрансмиттеров могут быть связаны когнитивные нарушения, нейропсихологические изменения, двигательные нарушения и др. Кроме того, модулируя функции иммунокомпетентных клеток, биогенные амины способны участвовать в патогенезе РС [32]. На это указывают изменения уровней продукции катехоламинов мононуклеарными клетками периферической крови больных РС [33]; способность иммунокомпетентных клеток синтезировать катехоламины, влияние интерферона-бета (ИФН-β) и интерферона-гамма (ИФН-γ) на этот синтез [34]; а также влияние ДА, норадреналина и серотонина, селективных ингибиторов обратного захвата серотонина на течение экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита [32].

Среди нейротрансмиттеров, участвующих в иммуномодуляции при РС, наибольшее внимание привлекает ДА – один из главных нейротрансмиттеров в головном мозге, опосредующий различные функции в ЦНС. В многочисленных исследованиях продемонстрировано, что ДА не только опосредует межклеточное взаимодействие в нервной системе, но также может участвовать в модуляции иммунитета через рецепторы, которые экспрессируются на иммунных клетках. Об этом свидетельствуют экспериментальные данные о влиянии ДА на различные функции иммунных эффекторных клеток, в частности – Т-лимфоцитов [35].

В связи с недавно установленной патогенетической ролью Th17-иммунного ответа при РС, особое внимание привлекает возможное влияние ДА на функции Th17-клеток. Однако на сегодняшний день данные о влиянии ДА на Th17-клетки противоречивы. По данным одних авторов, он может подавлять продукцию ИЛ-17, по данным других – стимулировать [35-37]. Это может быть связано как с исследуемой группой больных, так и с условиями эксперимента (применяемые митогены, концентрации ДА *in vitro*). Вероятно, ДА может оказывать как стимулирующий, так и ингибирующий эффект на Th17-клетки, что может быть связано с активацией рецепторов разных групп.

Согласно нашим данным [38], содержание ДА в плазме крови у больных РС в стадии обострения ниже, чем в группе больных в стадии ремиссии или в группе здоровых доноров, тогда как процент Th17-клеток, а также продукция ИЛ-17 стимулированными мононуклеарными клетками периферической крови, напротив, выше, что может указывать на противовоспалительный эффект ДА при РС. Данные *in vivo* подтверждаются в экспериментах *in vitro*. ДА подавляет продукцию ИЛ-17 и ИФН-γ стимулированными мононуклеарными клетками периферической крови больных РС как в стадии ремиссии, так и в стадии обострения. Выявлен ингибирующий эффект ДА на продукцию ИЛ-17 D2 рецепторами ДА. Полученные данные позволили предположить возможный терапевтический потенциал дофаминергических рецепторов при РС [38, 39].

Большое внимание привлекает изучение влияния ДА на функционирование ДК, участвующих в запуске и регуляции иммунного ответа, включая Th17-зависимый ответ. Известно, что ДК экспрессируют рецепторы к ДА, что указывает на то, что ДА способен модулировать их функции. ДК как экспериментальных животных, так и человека способны синтезировать и депонировать ДА, который может участвовать в регуляции созревания ДК, а также – регуляции антигенпредставления [40-42]. В то же время, влияние ДА, на опосредованный ДК Th17-зависимый иммунный ответ, недостаточно изучено.

В первом исследовании при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите Nakano K. и соавт. (2008) показано, что блокада D2 рецепторов ДА с применением специфического антагониста L750667 (1,0 и 0,1 мкМ) на ДК здоровых доноров усиливает опосредованную ДК дифференцировку Th17-клеток и продукцию ИЛ-17 CD4⁺ Т-клетками [43]. Применение других антагонистов D2 рецепторов (сульпирид и немонаприд) подтвердило полученные результаты. В то же время блокада D1 рецепторов ДА с использованием специфического антагониста SCH23390 оказывало ингибирующее влияние на опосредованное ДК дифференцировку Th17-клеток. Схожие результаты были получены и при использовании других антагонистов D1 рецепторов (SKF83566, LE300). Полученные авторами данные *in vitro* были подтверждены и *in vivo*. Введение мышам антагониста D2 рецепто-

ров L750667 с последующей иммунизацией протеолипидным гликопротеином вызывает сверхострый экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит. Аналогичные данные были получены в случае введения сульфарида. Напротив, иммунизация мышей, которым предварительно вводился SCH23390 (антагонист D1 рецепторов), не приводило к развитию экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. Клетки, выделенные из селезенки таких мышей, продуцировали меньшее количество ИЛ-17, чем клетки от мышей, которым вместо SCH23390 вводился фосфатно-солевой буферный раствор (контрольная группа) [41, 42].

Полученные данные были сопоставимы с таковыми и при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите. Было установлено, что лечение мышей антагонистом D1-дофаминовых рецепторов SCH23390, а также SKF83566 и LE300 уменьшает выраженность симптомов экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита. Схожие результаты были получены и при использовании агонистов D2 рецепторов (ропинирол, прамипексол). Внесение мышам ДК, обработанных *in vitro* L750667, также сопровождалось развитием острого экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита, тогда как внесение SCH23390-обработанных ДК, напротив, оказывало профилактический эффект на экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, что согласуется с представленными выше результатами. Таким образом, было показано, что влияние ДА рецепторов как на воспроизведение, так и на течение экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита может быть опосредовано модуляцией функций ДК, а именно с влиянием на опосредованный ДК Th17-зависимый иммунный ответ [43].

Данные, представленные K.Nakano и соавт. в 2008 году [43], были подтверждены в более поздних работах F.Contreras и соавт. (2016) и С.Prado и соавт. (2018), которые показали, что CD4⁺ Т-клетки, стимулированные ДК мышей, «нокаутных» по D5-ДА рецепторам (D5RKO), продуцируют значительно меньше ИЛ-2, что указывает на менее эффективную способность D5RKO-ДК активировать CD4⁺ Т-клетки [44, 45]. Схожие результаты были получены и при оценке пролиферации CD4⁺ Т-клеток.

При индукции экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у мышей было обнаружено, что у D5RKO-мышей экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит развивается несколько позже и при этом в значительно более «мягкой» форме, по сравнению с контрольной группой. У таких мышей был существенно снижен процент CD4⁺ ИЛ-17⁺-Т-клеток, а также двойных позитивных CD4⁺ ИЛ-17⁺ИФН- γ ⁺-Т-клеток, с чем может быть связана меньшая выраженность клинической симптоматики. Кроме того, обнаружено, что нагруженные *in vitro* аутоантигеном (миелин-олигодендроцитарным протеином — МОГ) ДК от D5RKO-мышей способны развивать экспериментальный

аутоиммунный энцефаломиелит, однако в этом случае заболевание также характеризуется слабой выраженностью клинической симптоматики. Также в исследовании было установлено, что экспрессия D5 рецепторов на ДК может способствовать продукции ИЛ-23 — ключевого фактора дифференцировки Th17-клеток [44, 45].

Опосредованное через ДК влияние ДА на развитие и течение экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита также было показано и в недавнем исследовании этих же авторов, где были подтверждены ранее полученные результаты, а также было показано, что нокаут D5 рецепторов ДА на ДК у мышей с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом приводит к уменьшению инфильтрации в ЦНС CD4⁺-Т-клеточных субпопуляций, включая Th1- и Th17-, а также CD4⁺ГМ-КСФ⁺-Т-клеток. DRD5-сигнализация приводит к подавлению STAT-3 сигнального пути, который ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-12 и ИЛ-23, фактора дифференцировки Th17-клеток [45].

Исследуется влияние и норадреналина на функции ДК. Результаты большинства исследований в этом направлении указывают на ключевую роль бета-2-адренорецепторов [46—50]. Несмотря на то, что бета-2-адренорецепторы чувствительны, главным образом, к адреналину, эффект норадреналина также может быть связан с активацией этих рецепторов, что было показано в недавно проведенном исследовании Takenaka M. и соавт. [47]. Выделяют две группы рецепторов к норадреналину: альфа(α)-рецепторы (включающие α 1- и α 2-рецепторы) и бета(β)-рецепторы (включающие β 1-, β 2- и β 3-рецепторы). α 1- и β -рецепторы стимулируют аденилатциклазу, α 2-рецепторы — ингибируют [48, 49]. Внесение норадреналина в культуру ДК оказывает ингибирующий эффект на ЛПС-стимулирующую продукцию ИЛ-12p70, не влияет на продукцию ИЛ-23 и повышает продукцию ИЛ-10. В экспериментах с блокадой α 2- и β 2-адренорецепторов было выявлено, что ингибирующий эффект норадреналина связан с β 2 адренорецепторами. Интересно, что внесение агониста β 2-адренорецепторов (фенотерол) без последующего внесения норадреналина не приводило к усилению продукции цитокинов. В этом же исследовании было установлено, что норадреналин не влияет на созревание ДК [49]. Схожие результаты были получены с применением агониста β 2-адренорецептора салбутамола [50].

Таким образом, приведенные данные указывают на важную роль катехоламинов в регуляции аутоиммунного воспаления при РС, в особенности, на опосредованный ДК Th17-зависимый иммунный ответ, играющий одну из ключевых ролей в иммунопатогенезе РС. Именно модуляция активности дендритных клеток биогенными аминами может стать новым подходом к патогенетическому лечению рассеянного склероза.

Список литературы

1. Гусев Е.И., Бойко А.Н. Рассеянный склероз в эпоху широкого использования препаратов, изменяющих его течение (ПИТРС).
2. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2009; 109(7-2): 4-9.
3. Бойко А.Н., Гусев Е.И. Современные алгоритмы диагностики и лечения рассеянного склероза, основанные на индивидуальной оценке состояния пациента. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2017; 117(2-2): 92-106. DOI: 10.17116/jnevro20171172292-106
4. Boyko A., Kesselring J., Paty D.W., Siva A., Singhal B., Thompson A., Willoughby E. *Multiple sclerosis and public health. Educational and management implications*. WHO, Department of Mental Health, Neuroscience and Neurological Disorders: 1999; 2. 11 p.
5. Warnke C., Olsson T., Hartung H.P. PML: The Dark Side of Immunotherapy in Multiple Sclerosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 2015; 36(12): 799-801. DOI: 10.1016/j.tips.2015.09.006
6. Zimmermann M., Brouwer E., Tice J.A., Seidner M., Loos A.M., Liu S., Chapman R.H., Kumar V., Carlson J.J. Disease-Modifying Therapies for Relapsing-Remitting and Primary Progressive Multiple Sclerosis: A Cost-Utility Analysis. *CNS Drugs*. 2018; 32(12): 1145-1157. DOI: 10.1007/s40263-018-0566-9
7. Melnikov M., Rogovskii V., Boyko A., Pashenkov M. The influence of biogenic amines on Th17-mediated immune response in multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2018; 21: 19-23. DOI: 10.1016/j.msard.2018.02.012
8. Li Y.F., Zhang S.X., Ma X.W., Xue Y.L., Gao C., Li X.Y. Levels of peripheral Th17 cells and serum Th17-related cytokines in patients with multiple sclerosis: a metaanalysis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2017; 18: 20-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard>
9. Singh R.P., Hasan S., Sharma S., Nagra S., Yamaguchi D.T., Wong D.T., Hahn B.H., Hossain A. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(12): 1174-1181. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.08.019>
10. Passos G.R.D., Sato D.K., Becker J., Fujihara K. Th17 cells pathways in multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorders: pathophysiological and therapeutic implications. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 5314541. DOI: 10.1155/2016/5314541
11. El-Behi M., Ciric B., Dai H., Yan Y., Cullimore M., Safavi F., Zhang G.X., Dittel B.N., Rostami A. The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nat. Immunol.* 2011; 12(6): 568-575. DOI: 10.1038/ni.2031
12. Durelli L., Conti L., Clerico M., Boselli M., Contessa G., Ripellino P., Ferrero B., Eid P., Novelli F. T-helper 17 cells expand in multiple sclerosis and are inhibited by interferon-beta. *Ann. Neurol.* 2009; 65(5): 499-509. DOI: 10.1002/ana.21652
13. Knier B., Rothhammer V., Heink S., Puk O., Graw J., Hemmer B., Korn T. Neutralizing IL-17 protects the optic nerve from autoimmune pathology and prevents retinal nerve fiber layer atrophy during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Autoimmun.* 2015; 56: 34-44. DOI: 10.1016/j.jaut.2014.09.003
14. Koenders M.I., van den Berg W.B. Secukinumab for rheumatology: development and its potential place in therapy. *Drug Des. Devel. Ther.* 2016; 10: 2069-2080. DOI: 10.2147/DDDT.S105263
15. Kvarnstrom M., Ydrefors J., Ekerfelt C., Vrethem M., Ernerudh J. Longitudinal interferon- β effects in multiple sclerosis: differential regulation of IL-10 and IL-17A, while no sustained effects on IFN- γ , IL-4 or IL-13. *J. Neurol. Sci.* 2013; 325(1-2): 79-85. DOI: 10.1016/j.jns.2012.12.001
16. Liao J.J. Cutting edge: Alternative signaling of Th17 cell development by sphingosine 1-phosphate. *J. Immunol.* 2007; 178(9): 5425-5428.
17. Martín-Saavedra F.M. Beta interferon restricts the inflammatory potential of CD4+ cells through the boost of the Th2 phenotype, the inhibition of Th17 response and the prevalence of naturally occurring T regulatory cells. *Mol. Immunol.* 2008; 45(15): 4008-4019. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.06.006
18. Begum-Haque S., Sharma A., Kasper I.R., Foureau D.M., Mielcarz D.W., Haque A., Kasper L.H. Downregulation of IL-17 and IL-6 in the central nervous system by glatiramer acetate in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 2008; 204(1-2): 58-65. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2008.07.018
19. Nowatzky J., Manches O., Khan S.A., Godefroy E., Bhardwaj N. Modulation of human Th17 cell responses through complement receptor 3 (CD11 b/CD18) ligation on monocyte-derived dendritic cells. *J. Autoimmun.* 2018; 92: 57-66. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.05.005
20. Mbongue J., Nicholas D., Firek A., Langridge W. The role of dendritic cells in tissue-specific autoimmunity. *J. Immunol Res.* 2014; 2014: 857143. DOI: 10.1155/2014/857143
21. Tai Y., Wang Q., Korner H., Zhang L., Wei W. Molecular Mechanisms of T Cells Activation by Dendritic Cells in Autoimmune Diseases. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 642. DOI: 10.3389/fphar.2018.00642
22. Cua D.J., Sherlock J., Chen Y., Murphy C.A., Joyce B., Seymour B., Lucian L., To W., Kwan S., Churakova T., Zurawski S., Wiekowski M., Lira S.A., Gorman D., Kastelein R.A., Sedgwick J.D. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*. 2003; 421(6924): 744-748. DOI: 10.1038/nature01355
23. Thakker P., Leach M.W., Kuang W., Benoit S.E., Leonard J.P., Marusic S. IL-23 is critical in the induction but not in the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2007; 178(4): 2589-2598.
24. Li Y., Chu N., Hu A., Gran B., Rostami A., Zhang G.X. Increased IL-23p19 expression in multiple sclerosis lesions and its induction in microglia. *Brain*. 2007; 130(2): 490-501.
25. Vaknin-Dembinsky A., Balashov K., Weiner H.L. IL-23 is increased in dendritic cells in multiple sclerosis and down-regulation of IL-23 by antisense oligos increases dendritic cell IL-10 production. *J. Immunol.* 2006; 176(12): 7768-7774.
26. Sie C., Korn T. Dendritic cells in central nervous system autoimmunity. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39(2): 99-111. DOI: 10.1007/s00281-016-0608-7
27. Quintana F.J., Yeste A., Mascalfroni D. Role and therapeutic value of dendritic cells in central nervous system autoimmunity. *Cell Death Differ.* 2015; 22(2): 215-224. DOI: 10.1038/cdd.2014.125
28. O'Neill L.A., Pearce E.J. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J. Exp. Med.* 2016; 213(1): 15-23. DOI: 10.1084/jem.20151570
29. Angiari S., O'Neill L.A. Dimethyl fumarate: targeting glycolysis to treat MS. *Cell Res.* 2018; 28(6): 613-615. DOI: 10.1038/s41422-018-0045-3
30. Pashenkov M., Huang Y.M., Kostulas V., Haglund M., Söderström M., Link H. Two subsets of dendritic cells are present in human cerebrospinal fluid. *Brain*. 2001; 124(3): 480-492.
31. Louveau A., Smirnov I., Keyes T.J., Eccles J.D., Rouhani S.J., Peske J.D., Derecki N.C., Castle D., Mandell J.W., Lee K.S., Harris T.H., Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015; 523(7560): 337-341. DOI: 10.1038/nature14432
32. De Laere M., Berneman Z.N., Cools N. To the Brain and Back: Migratory Paths of Dendritic Cells in Multiple Sclerosis. *J. Neuroimmunol. Exp. Neurol.* 2018; 77(3): 178-192. DOI: 10.1093/jnen/nlx114
33. Мельников М.В., Пашенков М.В., Бойко А.Н. Психонейроиммунология и рассеянный склероз. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2015; 115(2-2): 8-15.
34. Cosentino M., Zaffaroni M., Marino F., Bombelli R., Ferrari M., Rasini E., Lecchini S., Ghezzi A., Frigo G. Catecholamine production and tyrosine hydroxylase expression in peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients: effect of cell stimulation and possible relevance for activation-induced apoptosis. *J. Neuroimmunol.* 2002; 133(1-2): 233-240.
35. Cosentino M., Zaffaroni M., Ferrari M., Marino F., Bombelli R., Rasini E., Frigo G., Ghezzi A., Comi G., Lecchini S. Interferon-gamma and interferon-beta affect endogenous catecholamines in human peripheral blood mononuclear cells: implications for multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2005; 162: 112-121. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.01.019
36. Levite M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. *Acta Physiol. (Oxf)*. 2016; 216(1): 42-89. DOI: 10.1111/apha.12476

37. Мельников М.В., Белоусова О.О., Попова Е.В., Жетишев Р.Р., Пашенков М.В., Бойко А.Н. Влияние катехоламинов на Th17-клетки при рассеянном склерозе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2016; 116(10-2): 16-20. DOI: 10.17116/jnevro201611610216-20
38. Melnikov M.V., Belousova O.O., Murugin V.V., Pashenkov M.V., Boyko A.N. The role of dopamine in modulation of Th-17 immune response in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol*, 2016, 292: 97-101. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2016.01.020
39. Melnikov M., Rogovskii V., Boyko A., Pashenkov M. The influence of biogenic amines on Th17-mediated immune response in multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2018; 21: 19-23. DOI: 10.1016/j.msard.2018.02.012
40. Marino F., Cosentino M. Multiple sclerosis: Repurposing dopaminergic drugs for MS--the evidence mounts. *Nat. Rev. Neurol.* 2016; 12(4): 191-192. DOI: 10.1038/nrneurol.2016.33
41. Pacheco R., Prado C.E., Barrientos M.J., Bernales S. Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. *J. Neuroimmunol.* 2009; 216(1-2): 8-19. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2009.07.018
42. Nakano K., Higashi T., Takagi R., Hashimoto K., Tanaka Y., Matsushita S. Dopamine released by dendritic cells polarizes Th2 differentiation. *Int. Immunol.* 2009; 21(6): 645-54. DOI: 10.1093/intimm/dxp033
43. Prado C., Contreras F., González H., Díaz P., Elgueta D., Barrientos M., Herrada A.A., Lladser Á., Bernales S., Pacheco R. J Immunol. Stimulation of dopamine receptor D5 expressed on dendritic cells potentiates Th17-mediated immunity. *J. Immunol.* 2012; 188(7): 3062-3070. DOI: 10.4049/jimmunol.1103096
44. Nakano K., Higashi T., Hashimoto K., Takagi R., Tanaka Y., Matsushita S. Antagonizing dopamine D1-like receptor inhibits Th17 cell differentiation: preventive and therapeutic effects on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008; 373(2): 286-291. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.012
45. Contreras F., Prado C., González H., Franz D., Osorio-Barríos F., Osorio F., Ugalde V., Lopez E., Elgueta D., Figueroa A., Lladser A., Pacheco R. Dopamine Receptor D3 Signaling on CD4⁺ T Cells Favors Th1- and Th17-Mediated Immunity. *J. Immunol.* 2016; 196(10): 4143-4149. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502420>
46. Prado C., Gaiazzi M., González H., Ugalde V., Figueroa A., Osorio-Barríos F.J., López E., Lladser A., Rasini E., Marino F., Zafaroni M., Cosentino M., Pacheco R. Dopaminergic Stimulation of Myeloid Antigen-Presenting Cells Attenuates Signal Transducer and Activator of Transcription 3-Activation Favouring the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Front. Immunol.* 2018; 9: 571. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00571
47. Nijhuis L.E., Olivier B.J., Dhawan S., Hilbers F.W., Boon L., Wolkers M.C., Samsom J.N., de Jonge W.J. Adrenergic β 2 receptor activation stimulates antiinflammatory properties of dendritic cells in vitro. *PLoS One.* 2014; 9(1): e85086. DOI: 10.1371/journal.pone.0085086
48. Takenaka M.C., Araujo L.P., Maricato J.T., Nascimento V.M., Guerreschi M.G., Rezende R.M., Quintana F.J., Basso A.S. Norepinephrine Controls Effector T Cell Differentiation through β 2-Adrenergic Receptor-Mediated Inhibition of NF- κ B and AP-1 in Dendritic Cells. *J. Immunol.* 2016; 196(2): 637-644. DOI: 10.4049/jimmunol.1501206
49. Manni M., Granstein R.D., Maestroni G. β 2-Adrenergic agonists bias TLR-2 and NOD2 activated dendritic cells towards inducing an IL-17 immune response. *Cytokine.* 2011; 55(3): 380-386. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.05.013
50. Sanders V.M., Baker R.A., Ramer-Quinn D.S., Kasproicz D.J., Fuchs B.A., Street N.E. Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J. Immunol.* 1997; 158(9): 4200-4210.
51. Sanders V.M., Straub R.H. Norepinephrine, the beta-adrenergic receptor, and immunity. *Brain Behav. Immun.* 2002; 16(4): 290-332.
2. Boyko A.N., Gusev E.I. [Current algorithms of diagnosis and treatment of multiple sclerosis based on the individual assessment of the patient]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S.Korsakova. [S.S.Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*. 2017; 117(2-2): 92-106. DOI: 10.17116/jnevro20171172292-106 (in Russian).
3. Boyko A., Kesselring J., Paty D.W., Siva A., Singhal B., Thompson A., Willoughby E. *Multiple sclerosis and public health. Educational and management implications*. WHO, Department of Mental Health, Neuroscience and Neurological Disorders: 1999; 2. 11 p.
4. Warnke C., Olsson T., Hartung H.P. PML: The Dark Side of Immunotherapy in Multiple Sclerosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 2015; 36(12): 799-801. DOI: 10.1016/j.tips.2015.09.006
5. Zimmermann M., Brouwer E., Tice J.A., Seidner M., Loos A.M., Liu S., Chapman R.H., Kumar V., Carlson J.J. Disease-Modifying Therapies for Relapsing-Remitting and Primary Progressive Multiple Sclerosis: A Cost-Utility Analysis. *CNS Drugs.* 2018; 32(12): 1145-1157. DOI: 10.1007/s40263-018-0566-9
6. Melnikov M., Rogovskii V., Boyko A., Pashenkov M. The influence of biogenic amines on Th17-mediated immune response in multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2018; 21: 19-23. DOI: 10.1016/j.msard.2018.02.012
7. Li Y.F., Zhang S.X., Ma X.W., Xue Y.L., Gao C., Li X.Y. Levels of peripheral Th17 cells and serum Th17-related cytokines in patients with multiple sclerosis: a metaanalysis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2017; 18: 20-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard>
8. Singh R.P., Hasan S., Sharma S., Nagra S., Yamaguchi D.T., Wong D.T., Hahn B.H., Hossain A. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2014; 13(12): 1174-1181. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2014.08.019>
9. Passos G.R.D., Sato D.K., Becker J., Fujihara K. Th17 cells pathways in multiple sclerosis and neuromyelitis optica spectrum disorders: pathophysiological and therapeutic implications. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 5314541. DOI: 10.1155/2016/5314541
10. El-Behi M., Ciric B., Dai H., Yan Y., Cullimore M., Safavi F., Zhang G.X., Dittel B.N., Rostami A. The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nat. Immunol.* 2011; 12(6): 568-575. DOI: 10.1038/ni.2031
11. Durelli L., Conti L., Clerico M., Boselli M., Contessa G., Ripellino P., Ferrero B., Eid P., Novelli F. T-helper 17 cells expand in multiple sclerosis and are inhibited by interferon-beta. *Ann. Neurol.* 2009; 65(5): 499-509. DOI: 10.1002/ana.21652
12. Knier B., Rothhammer V., Heink S., Puk O., Graw J., Hemmer B., Korn T. Neutralizing IL-17 protects the optic nerve from autoimmune pathology and prevents retinal nerve fiber layer atrophy during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Autoimmun.* 2015; 56: 34-44. DOI: 10.1016/j.jaut.2014.09.003.
13. Koenders M.I., van den Berg W.B. Secukinumab for rheumatology: development and its potential place in therapy. *Drug Des. Devel. Ther.* 2016; 10: 2069-2080. DOI: 10.2147/DDDT.S105263
14. Kvarnstrom M., Ydrefors J., Ekerfelt C., Vrethem M., Ernerudh J. Longitudinal interferon- β effects in multiple sclerosis: differential regulation of IL-10 and IL-17A, while no sustained effects on IFN- γ , IL-4 or IL-13. *J. Neurol. Sci.* 2013; 325(1-2): 79-85. DOI: 10.1016/j.jns.2012.12.001
15. Liao J.J. Cutting edge: Alternative signaling of Th17 cell development by sphingosine 1-phosphate. *J. Immunol.* 2007; 178(9): 5425-5428.
16. Martín-Saavedra F.M. Beta interferon restricts the inflammatory potential of CD4⁺ cells through the boost of the Th2 phenotype, the inhibition of Th17 response and the prevalence of naturally occurring T regulatory cells. *Mol. Immunol.* 2008; 45(15): 4008-4019. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.06.006
17. Begum-Haque S., Sharma A., Kasper I.R., Foureau D.M., Mielcarz D.W., Haque A., Kasper L.H. Downregulation of IL-17 and IL-6 in the central nervous system by glatiramer acetate in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 2008; 204(1-2): 58-65. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2008.07.018
18. Nowatzky J., Manches O., Khan S.A., Godefroy E., Bhardwaj N. Modulation of human Th17 cell responses through complement receptor 3 (CD11b/CD18) ligation on monocyte-derived dendritic cells. *J. Autoimmun.* 2018; 92: 57-66. DOI: 10.1016/j.jaut.2018.05.005

References

1. Gusev E.I., Boyko A.N. [Multiple sclerosis in the era of widespread use of drugs that change its course (PITRS)]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S.Korsakova. [S.S.Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*. 2009; 109(7-2): 4-9. (in Russian).

19. Mbongue J., Nicholas D., Firek A., Langridge W. The role of dendritic cells in tissue-specific autoimmunity. *J. Immunol Res.* 2014; 2014: 857143. DOI: 10.1155/2014/857143
20. Tai Y., Wang Q., Korner H., Zhang L., Wei W. Molecular Mechanisms of T Cells Activation by Dendritic Cells in Autoimmune Diseases. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 642. DOI: 10.3389/fphar.2018.00642
21. Cua D.J., Sherlock J., Chen Y., Murphy C.A., Joyce B., Seymour B., Lucian L., To W., Kwan S., Churakova T., Zurawski S., Wiekowski M., Lira S.A., Gorman D., Kastelein R.A., Sedgwick J.D. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature.* 2003; 421(6924): 744-748. DOI: 10.1038/nature01355
22. Thakker P., Leach M.W., Kuang W., Benoit S.E., Leonard J.P., Marusic S. IL-23 is critical in the induction but not in the effector phase of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* 2007; 178 (4): 2589-2598.
23. Li Y., Chu N., Hu A., Gran B., Rostami A., Zhang G.X. Increased IL-23p19 expression in multiple sclerosis lesions and its induction in microglia. *Brain.* 2007; 130(2): 490-501.
24. Vaknin-Dembinsky A., Balashov K., Weiner H.L. IL-23 is increased in dendritic cells in multiple sclerosis and down-regulation of IL-23 by antisense oligos increases dendritic cell IL-10 production. *J. Immunol.* 2006; 176(12): 7768-7774.
25. Sie C., Korn T. Dendritic cells in central nervous system autoimmunity. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39(2): 99-111. DOI: 10.1007/s00281-016-0608-7
26. Quintana F.J., Yeste A., Mascalfroni D. Role and therapeutic value of dendritic cells in central nervous system autoimmunity. *Cell Death Differ.* 2015; 22(2): 215-224. DOI: 10.1038/cdd.2014.125
27. O'Neill L.A., Pearce E.J. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. *J. Exp. Med.* 2016; 213(1): 15-23. DOI: 10.1084/jem.20151570
28. Angiari S., O'Neill L.A. Dimethyl fumarate: targeting glycolysis to treat MS. *Cell Res.* 2018; 28(6): 613-615. DOI: 10.1038/s41422-018-0045-3
29. Pashenkov M., Huang Y.M., Kostulas V., Haglund M., Söderström M., Link H. Two subsets of dendritic cells are present in human cerebrospinal fluid. *Brain.* 2001; 124(3): 480-492.
30. Louveau A., Smirnov I., Keyes T.J., Eccles J.D., Rouhani S.J., Peske J.D., Derecki N.C., Castle D., Mandell J.W., Lee K.S., Harris T.H., Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015; 523(7560): 337-341. DOI: 10.1038/nature14432
31. De Laere M., Berneman Z.N., Cools N. To the Brain and Back: Migratory Paths of Dendritic Cells in Multiple Sclerosis. *J. Neuroimmunol. Exp. Neurol.* 2018; 77(3): 178-192. DOI: 10.1093/jnen/nlx114
32. Melnikov M., Pashenkov M., Boyko A. [Psychoneuroimmunology and multiple sclerosis]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S.Korsakova. [S.S.Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry].* 2015; 115(2-2): 8-15. (in Russian).
33. Cosentino M., Zaffaroni M., Marino F., Bombelli R., Ferrari M., Rasini E., Lecchini S., Ghezzi A., Frigo G. Catecholamine production and tyrosine hydroxylase expression in peripheral blood mononuclear cells from multiple sclerosis patients: effect of cell stimulation and possible relevance for activation-induced apoptosis. *J. Neuroimmunol.* 2002; 133(1-2): 233-240.
34. Cosentino M., Zaffaroni M., Ferrari M., Marino F., Bombelli R., Rasini E., Frigo G., Ghezzi A., Comi G., Lecchini S. Interferon-gamma and interferon-beta affect endogenous catecholamines in human peripheral blood mononuclear cells: implications for multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2005; 162: 112-121. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2005.01.019
35. Levite M. Dopamine and T cells: dopamine receptors and potent effects on T cells, dopamine production in T cells, and abnormalities in the dopaminergic system in T cells in autoimmune, neurological and psychiatric diseases. *Acta Physiol. (Oxf).* 2016; 216(1): 42-89. DOI: 10.1111/apha.12476
36. Melnikov M.V., Belousova O.O., Popova E.V., Zhetishev R.R., Pashchenkov M.V., Boyko A.N. [The effect of catecholamines on Th17 cells in multiple sclerosis]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S.Korsakova. [S.S.Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry].* 2016; 116(10-2): 16-20. DOI: 10.17116/jnevro.201611610216-20 (in Russian).
37. Melnikov M.V., Belousova O.O., Murugin V.V., Pashenkov M.V., Boyko A.N. The role of dopamine in modulation of Th-17 immune response in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2016; 292: 97-101. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2016.01.020
38. Melnikov M., Rogovskii V., Boyko A., Pashenkov M. The influence of biogenic amines on Th17-mediated immune response in multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 2018; 21: 19-23. DOI: 10.1016/j.msard.2018.02.012
39. Marino F., Cosentino M. Multiple sclerosis: Repurposing dopaminergic drugs for MS--the evidence mounts. *Nat. Rev. Neurol.* 2016; 12(4): 191-192. DOI: 10.1038/nrnneurol.2016.33
40. Pacheco R., Prado C.E., Barrientos M.J., Bernales S. Role of dopamine in the physiology of T-cells and dendritic cells. *J. Neuroimmunol.* 2009; 216(1-2): 8-19. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2009.07.018
41. Nakano K., Higashi T., Takagi R., Hashimoto K., Tanaka Y., Matsushita S. Dopamine released by dendritic cells polarizes Th2 differentiation. *Int. Immunol.* 2009; 21(6): 645-54. DOI: 10.1093/intimm/dxp033
42. Prado C., Contreras F., González H., Díaz P., Elgueta D., Barrientos M., Herrada A.A., Lladser Á., Bernales S., Pacheco R. J Immunol. Stimulation of dopamine receptor D5 expressed on dendritic cells potentiates Th17-mediated immunity. *J. Immunol.* 2012; 188(7): 3062-3070. DOI: 10.4049/jimmunol.1103096
43. Nakano K., Higashi T., Hashimoto K., Takagi R., Tanaka Y., Matsushita S. Antagonizing dopamine D1-like receptor inhibits Th17 cell differentiation: preventive and therapeutic effects on experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008; 373(2): 286-291. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.012
44. Contreras F., Prado C., González H., Franz D., Osorio-Barrios F., Osorio F., Ugalde V., Lopez E., Elgueta D., Figueroa A., Lladser A., Pacheco R. Dopamine Receptor D3 Signaling on CD4⁺ T Cells Favors Th1- and Th17-Mediated Immunity. *J. Immunol.* 2016; 196(10): 4143-4149. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502420>
45. Prado C., Gaiazzi M., González H., Ugalde V., Figueroa A., Osorio-Barrios F.J., López E., Lladser A., Rasini E., Marino F., Zaffaroni M., Cosentino M., Pacheco R. Dopaminergic Stimulation of Myeloid Antigen-Presenting Cells Attenuates Signal Transducer and Activator of Transcription 3-Activation Favouring the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Front. Immunol.* 2018; 9: 571. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00571
46. Nijhuis L.E., Olivier B.J., Dhawan S., Hilbers F.W., Boon L., Wolkers M.C., Samsom J.N., de Jonge W.J. Adrenergic β 2 receptor activation stimulates antiinflammatory properties of dendritic cells in vitro. *PLoS One.* 2014; 9(1): e85086. DOI: 10.1371/journal.pone.0085086
47. Takenaka M.C., Araujo L.P., Maricato J.T., Nascimento V.M., Guereschi M.G., Rezende R.M., Quintana F.J., Basso A.S. Norepinephrine Controls Effector T Cell Differentiation through β 2-Adrenergic Receptor-Mediated Inhibition of NF- κ B and AP-1 in Dendritic Cells. *J. Immunol.* 2016; 196(2): 637-644. DOI: 10.4049/jimmunol.1501206
48. Manni M., Granstein R.D., Maestroni G. β 2-Adrenergic agonists bias TLR-2 and NOD2 activated dendritic cells towards inducing an IL-17 immune response. *Cytokine.* 2011; 55(3): 380-386. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.05.013
49. Sanders V.M., Baker R.A., Ramer-Quinn D.S., Kasprovicz D.J., Fuchs B.A., Street N.E. Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J. Immunol.* 1997; 158(9): 4200-4210.
50. Sanders V.M., Straub R.H. Norepinephrine, the beta-adrenergic receptor, and immunity. *Brain Behav. Immun.* 2002; 16(4): 290-332.

Сведения об авторах:

Мельников Михаил Валерьевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Бойко Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Пашенков Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России

Гусев Евгений Иванович – доктор медицинских наук, академик РАН, заведующий кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 616-092

Роль типологии и реактивности в возникновении и развитии дезадаптивных расстройств*

Артеменков А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Череповецкий государственный университет».
162600, Череповец, пр. Луначарского, д. 5

В данном обзоре поднимается проблема переходных состояний, возникающих на грани нормы и патологии, которые принято называть пограничными психическими расстройствами (ППР). В работе высказана гипотеза о том, что в современных условиях жизни человека часто возникает дезинтеграция психической деятельности в связи со значительной информационной нагрузкой на интегративные системы головного мозга. В обобщении материала сделан акцент на описание внутренних (биологических) факторов, определяющих возникновение и развитие дезадаптивных состояний и сопровождающих их пограничных психических расстройств. Обсуждается вопрос о роли индивидуально-типологических свойств нервной системы и реактивности личности в формировании и развитии пограничной психической патологии. Рассматривается вопрос о лечебно-профилактических и коррекционных мероприятиях, направленных на снижение дезадаптивных проявлений у человека в процессе жизнедеятельности и минимизацию пограничных психических расстройств.

Ключевые слова: свойства нервной системы; реактивность; тип дезадаптации; пограничные психические расстройства; профилактика; коррекция.

Для цитирования: Артеменков А.А. Роль типологии и реактивности в возникновении и развитии дезадаптивных расстройств. *Патогенез*. 2019; 17(1): 26-34

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.26-34

Для корреспонденции: Артеменков Алексей Александрович, e-mail: basis@live.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 25.06.2018

The role of typology and reactivity in initiation and development of disadaptive disorders

Artemenkov A.A.

Cherepovets State University,
Prospect Lunacharskogo 5, Cherepovets 162600, Russian Federation

This review focuses on the issue of transition states that occur on the edge of normal and pathological conditions and are called borderline mental disorders (BMD). The author hypothesized that in the modern life, disintegration of mental activity frequently develops in association with a significant informational load on brain integrative systems. In summarizing the material, an emphasis was made on description of internal (biological) factors that determine the emergence and development of disadaptive conditions and concurrent BMDs. The review discusses the role of individual typological features of the nervous system and individual reactivity in the formation and development of BMD and focuses on therapeutic, preventive, and correctional measures aimed at alleviating disadaptive signs in humans and minimizing BMDs.

Key words: properties of the nervous system; reactivity; type of maladjustment; borderline mental disorders; prevention; correction.

For citation: Artemenkov A.A. [The role of typology and reactivity in initiation and development of disadaptive disorders]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 26-34. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.26-34

For correspondence: Artemenkov Alexey Alexandrovich, e-mail: basis@live.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 25.06.2018

Введение

Нет никакого сомнения в том, что современные условия жизнедеятельности человека существенно отличаются от тех, которые были еще 10 и более лет

тому назад. Существенно изменилось общество: во все сферы деятельности пришли новые технологии, появились ранее неизвестные угрозы безопасному существованию человека (терроризм, экологические

* Мнения автора публикации и редакционной коллегии могут не совпадать.

и техногенные катастрофы, особо опасные вирусные инфекции, экономические кризисы и др.). Мир меняется очень быстро и современному человеку приходится реагировать на внешние раздражители и оценивать все обстоятельства своей повседневной жизни. На сегодняшний момент мы можем констатировать факт того, что в последнее время все больше стало возникать переходных состояний между нормой и патологией – пограничных психических расстройств (ППР). Так, по данным В.В. Чубаровского с соавт. [1] различные формы психических нарушений выявлены у 67,5 % учащихся школ и колледжей, 36,0 % из них составили предболезненные состояния, 16,0 % – невротические реакции, 20,0 % – патохарактерологические реакции. Общими признаками ППР являются преобладание проявлений невротического уровня, вегетативных дисфункций и их взаимосвязь с личностно-типологическими особенностями. Появление у разных слоев населения ППР наводит на мысль о возникновении дезинтеграции психической деятельности, возникшей на основе расхождения между афферентной стимуляцией мозга и адекватными ответными рефлекторными реакциями организма на раздражители. В этой связи мы полагаем, что наряду с изменением условий существования организма должна происходить выработка новых компенсаторно-приспособительных механизмов деятельности коры головного мозга в ходе онтогенетического и эволюционного развития. Возможно, формирование таких защитных реакций несколько отстает от темпов изменения социально-психологических процессов в обществе. Но какие именно механизмы компенсации отклонений от нормы нервно-психической деятельности появились у человека, сказать пока сложно. Ясно одно, что эти процессы биологически обусловлены.

М.М. Хананашвили [2] также считает, что переходное (промежуточное) состояние между нормой и патологией – явление общебиологическое. В связи с этим, автором обнаружена бифункциональная природа переходного состояния – биологически положительная, защитная и биологически негативная, как состояние, предшествующее развитию устойчивой психической патологии. В восходящем эволюционном ряду обнаружено возрастание роли и усложнение механизмов биологически положительной составляющей переходного состояния, что объясняется развитой приспособительной деятельностью головного мозга к усложняющимся условиям среды. Ю.А. Александровским [3] показано, что важнейшим показателем психической дезадаптации является нехватка «степеней свободы» адекватного и целенаправленного реагирования человека в психотравмирующей ситуации. Расстройства невротического уровня, по мнению автора, формируются в результате прорыва индивидуального барьера психической адаптации.

С нашей точки зрения основными этиопатогенетическими факторами развития пограничных состояний психической дезадаптации являются социаль-

но-гигиенические и медико-биологические факторы. Действительно, понять природу дезадаптивного поведения человека можно изучив психосоциальные факторы и факторы внешней среды, которые определяют формирование дезадаптивных состояний по тормозному и возбуждающему типу [4].

Цель работы – на основе данных литературы обобщить сведения о роли биологических факторов в формировании состояний психической дезадаптации, сопровождающей пограничные психические расстройства.

Биологические детерминанты пограничных психических расстройств.

В настоящее время темперамент принято считать биологической составляющей индивидуальности человека. Такая особенность человека была подмечена еще в глубокой древности, в связи с чем, были выделены четыре типа темперамента: холерический, сангвинический, флегматический и меланхолический (Гиппократ, Гален). Очевидно и то, что темперамент является индивидуальной природно-обусловленной совокупностью динамических проявлений психики. Однако поворотным пунктом в изучении индивидуальности-типологических свойств нервной системы является учение И.П. Павлова о типах высшей нервной деятельности. За основу индивидуальных различий высших функций животных и человека Павлов принял такие физиологические свойства нервной системы как сила возбуждения и торможения (характеризует работоспособность нервных клеток), подвижность нервных процессов (т.е. быстрота смены одного процесса другим), и уравновешенность (определенный баланс) процессов возбуждения и торможения.

В результате изучения высшей нервной деятельности им была выделена следующая система типов нервной системы высших животных и человека, соответствующая основным типам темперамента: 1) сильный неуравновешенный (безудержный) – холерик; 2) сильный уравновешенный (подвижный) – сангвиник; 3) сильный уравновешенный (инертный) – флегматик; и 4) слабый тип – меланхолик. Отсюда высказано предположение о том, что врожденный тип нервной деятельности с большой вероятностью может являться предпосылкой формирования разных видов предболезненных состояний и пограничных психических расстройств личности. На этот счет И.П. Павлов пишет следующее: «У двух собак разного типа нервной системы под действием совершенно одних и тех же вредных условий наступало хроническое отклонение от нормы нервной деятельности, но в разных направлениях... Иначе говоря, мы имеем перед собой два различных невроза» [5, с.272].

Но нельзя не обратить внимание и на то, что типологически психодезадаптационные состояния могут быть представлены астеническим состоянием с преобладанием физической или психической слабости. Астенический вариант психической дезадаптации чаще всего характеризуется проявлением разбитости,

слабости, вялости («обессиливанием»). Напротив, психовегетативный вариант психической дезадаптации проявляется в виде возникающих вегетативных кризов или выраженных дисфункций вегетативной нервной системы. В то время как дистимический вариант связан с неопределенной тревогой, ощущением постоянного дискомфорта и неудовлетворенности личности [6].

В литературе высказывается мнение о том, что темперамент есть динамическая характеристика реактивности личности. Действительно, реактивность рассматривается как интегрирующее психодинамическое образование, представляющее доминирующие способы реагирования человека во взаимодействии внутреннего и внешнего и, соответственно, представляющее личность как средство этого взаимодействия. Примечательно и то, что реактивность и темперамент содержательно не определяют особенности личности, они только их модифицируют во всех реакциях (внешних и внутренних действиях) человека. Следовательно, свойства темперамента и реактивности имеют прочные многозначные связи со свойствами нервной системы [7].

Некоторые авторы [8] указывают на то, что активность и реактивность личности в значительной степени обусловлены нейродинамическими свойствами организма и выступают как динамические характеристики поведения человека. Реактивность выполняет в основном адаптивно-приспособительную функцию, а активность направлена на подчинение определенной ситуации человеку. Иначе говоря, активность и реактивность представляют собой сплав мотиваций и действий, направленных на достижение цели поведения.

Безусловно, с этой точки зрения важное значение имеет всесторонне изучение реактивности личности при формировании различного рода психопатологических состояний. Так изучение реактивности организма при шизофрении в общепсихологическом плане показало, что при действии сильных раздражителей в период манифестации процесса в ЦНС развивается резкое возбуждение, которое приводит к максимальной мобилизации защитных сил организма и иммунных механизмов, а затем резкое возбуждение сменяется торможением и снижением реактивности [9].

Судя по результатам работы [10], уровень общей неспецифической реактивности качественно характеризует и количественно отражает степень индивидуальной чувствительности и реактивности организма к различным экзогенным воздействиям. Кроме того, в ходе адаптивного приспособления выявляются четкие взаимосвязи уровней общей неспецифической реактивности с типами высшей нервной деятельности.

Помимо реактивности в генезе пограничных расстройств личности немаловажное значение играет импульсивность, которая считается диагностической особенностью данных психических расстройств [11]. Это состояние связано с неспособностью человека вовремя тормозить двигательную или когнитивную

деятельность. Невозможность торможения поведенческих реакций у лиц с расстройствами личности усугубляется в условиях стресса. Эти данные показывают, что импульсивность играет важную роль в принятии решений и поведения. В связи с этим обстоятельством психологическая и фармакологическая коррекция состояния импульсивности может предупредить прогрессирование расстройства личности и минимизировать связанные с этим неблагоприятные исходы.

Нет сомнения и в том, что сила нервной системы является показателем работоспособности нервных клеток и нервной системы в целом. Тогда есть основания полагать, что типологические свойства нервной системы в значительной степени определяют уровень интеллекта и умственных способностей человека. Так, имеются данные о том, что лицам с сильной нервной системой свойственна более высокая умственная работоспособность и академическая успеваемость [12-14]. Другие исследования показывают, что у половины студентов первого курса определяется слабый тип нервной системы, что напрямую связано со снижением адаптационных возможностей обучающихся [15]. С другой стороны, мы видим, что пограничные психические расстройства и психопатологические переживания у пациентов могут определять состояние хронического стресса, которое приводит к функциональному повреждению адаптационной системы организма [16]. Недавно выяснилось, что при существенном сдвиге нервных процессов в сторону возбуждения у лиц юношеского возраста возможно появление неуравновешенного поведения, сильных эмоциональных переживаний, неустойчивого настроения, слабого терпения и агрессивного поведения [17].

Есть основания полагать, что различного рода экстремальные воздействия (умственные, физические и средовые факторы) на организм предъявляют повышенные требования к нервно-психической деятельности и могут являться провоцирующими факторами, способствующими возникновению и развитию ППР. Так выяснилось, что при физической деятельности у спортсменов перед ответственными соревнованиями часто развивается предстартовый невроз и запредельное торможение в ЦНС, как защитный механизм от чрезмерного истощения нейронов мозга. В таких случаях изменяется биоэлектрическая активность коры, паттерны на ЭЭГ меняют свой вид, принимая форму, нехарактерную для оптимального старта и выступления. Коэффициент альфа / тета при невротических состояниях слишком велик, что характеризует повышенную тревожность и дезадаптацию в ЦНС. В тоже время было показано, что типологический комплекс спортсменов играет существенную роль в результативности соревновательной деятельности [18]. В этой связи, совершенно точно можно сказать, что лица с сильной нервной системой по отношению к возбуждению имеют более стабильные спортивные результаты и более низкий уровень страха, чем лица со слабым и средним типом нервной системы [19, 20]. Аналогич-

ный вывод относительно высоких спортивных результатов был сделан в работе [21].

Да, действительно изучение особенностей функционирования ЦНС и появления агрессивных и враждебных черт личности показывает зависимость этих свойств личности от различных типов темперамента. Предполагается также, что наибольшей враждебностью обладают холерики и меланхолики, а наименьшей — флегматики. В то же время наиболее высокие показатели агрессивности выявляются у холериков [22].

На основании учения о свойствах нервной системы нами разработана методика определения типов психофизической дезадаптации человека [23]. Итак, нет сомнения в том, что с типологическими свойствами нервной системы и реактивностью личности непосредственно связаны ситуации дезадаптивного поведения человека, которые сопровождаются ППР (рис. 1).

На основе предложенной типологии личности разработана принципиальная схема возникновения и развития дезадаптивных состояний и дезадаптивного поведения, в основе которого лежит матрица вовлеченных и невовлеченных в дезадаптивный процесс нейронов и нервных центров [24].

Таким образом, можно констатировать, что индивидуально-типологические свойства нервной системы и уровень реактивности являются ключевыми

биологическими факторами, влияющими на возникновение и развитие пограничных психических расстройств. Дезадаптивные состояния сопровождают пограничные психические расстройства, однако в общей массе дезадаптивных проявлений можно выделить типы дезадаптации обусловленные психическим, физическим и функциональным состоянием.

Особенности формирования пограничных состояний психической дезадаптации.

Анализ имеющихся в нашем распоряжении данных показал, что основными причинами формирования нервно-психической неустойчивости являются наследственные (генетические и конституциональные) факторы и экзогенные факторы органической природы (нейроинфекции, злоупотребление алкоголем, наркомания и токсикомания) и факторы макро- и микросоциальной среды (психотравмы, социальная и педагогическая запущенность) [25].

Некоторые зарубежные авторы [26, 27], рассматривая вопросы этиопатогенеза пограничных расстройств личности, уделяют внимание изменению настроения у пациентов. Считается, что психические травмы у пациентов с пограничными расстройствами личности являются факторами риска для психических расстройств. Более того, когнитивно-перцептивные симптомы пограничных расстройств



Рис. Модель формирования пограничных психических расстройств, обусловленных типологией и реактивностью личности.

личности опосредуют аффективные и поведенческие реакции организма.

Нами принят во внимание тот факт, что синдромально пограничные психические расстройства сопутствуют феномену школьной дезадаптации [28]. Также, мы имеем сведения о сопряженности ценностно-интенциональных и психодинамических свойств личности с начальными признаками психической дезадаптации. В ходе адаптации к условиям обучения установлена связь между психоэмоциональным напряжением и деформированностью, неразвитостью бессознательных программ поведения в виде деструктивных проявлений личности (импульсивная реактивность, страх, тревога), дефицитарных (подавленность, апатия, вялость) поведенческих паттернов [29].

Существует мнение о том, что при субклиническом протекании посттравматических стрессовых расстройств в отдаленном периоде у человека выявляется психическая дезадаптация, оказывающая влияние на профессиональный и семейный статус [30]. Как отмечено в работе [31], дезадаптивные схемы часто формируются в результате ранней психической травмы, вызванной жестким обращением, эмоциональной депривацией, насилием и дисфункциональным типом воспитания.

Очевидно, что если механизмы психологической дезадаптации влекут за собой психопатические расстройства, то наблюдаются причинно-следственные связи нарушения адаптации, в которой выделяют внешние и внутренние причины пограничных психических расстройств [32]. Тогда закономерно возникает вопрос о роли психоэмоционального напряжения в генезе пограничных психических (дезадаптивных) расстройств. По всей вероятности, длительное психоэмоциональное напряжение и обусловленная им активация регуляторных систем мозга приводит к снижению функциональных резервов организма, что является причиной возникновения дезадаптивных состояний, способствующих формированию психосоматической патологии [33].

Не исключено, что сила возбуждения, сила торможения и подвижность нервных процессов у лиц, находящихся в состоянии дезадаптации, ниже, чем у адаптированных лиц. Также в связи с неуравновешенностью в сторону торможения у дезадаптированных личностей уменьшается число движений кисти руки в теппинг-тесте, отмечается повышенная утомляемость, истощаемость и расшатанность нервной системы [34].

Не подлежит сомнению и то, что начальные признаки утомления при различных видах деятельности человека вызывают развитие состояния торможения в коре головного мозга, биологически необходимого для предотвращения истощения энергетических запасов нервных клеток. При этом в ЦНС возникает снижение возбудимости нервных центров [35]. Тогда такие свойства нервной системы как сила и устойчивость нервных процессов можно рассматривать как базис для формирования темпераментных свойств «эргичность» и «эмоциональность» [36].

Существует мнение о том, что умственное переутомление особенно опасно для психического здоровья человека. Переутомление и перенапряжение связано со способностью ЦНС долго работать с перегрузками, что в конечном итоге может привести к запредельному торможению [37].

Таким образом, основными причинами возникновения пограничных психических расстройств являются внутренние и внешние наследственно-средовые факторы, деструктивные проявления личности, изменения настроения, стрессовые воздействия, нарушения образа жизни. С нашей точки зрения сила возбуждения, сила торможения и подвижность нервных процессов у дезадаптированных лиц ниже, чем у адаптированных. Однако чрезмерное переутомление и перенапряжение нервной системы приводит к возникновению запредельного (охранительного) торможения.

Основные направления профилактики и коррекции пограничных состояний психической дезадаптации.

В связи с высокой уязвимостью корковых нейронов мозга при воздействии патогенетических факторов и быстрого формирования пограничных психических расстройств становится очевидной необходимость проведения лечебно-профилактических и коррекционно-реабилитационных мероприятий, направленных на минимизацию дезадаптивных проявлений. Лицам с разными формами пограничных психических расстройств показаны сходные лечебно-реабилитационные мероприятия. Такие пациенты не являются социально опасными, поэтому их реабилитация обычно проводится вне стационара.

Имеется опыт терапии астенического синдрома и когнитивных расстройств у пациентов с пограничными психопатологическими состояниями помощью лекарственного средства нооклерин (дианола ацеглума). Приводятся данные о хорошей переносимости препарата и отсутствии отрицательного влияния на основное заболевание [38].

Экспериментальные данные свидетельствуют в пользу высокой эффективности профилактики дезадаптационных расстройств, обусловленных профессиональным стрессом. Как выяснилось, применение комплексной терапии с использованием методики коррекции нарушений вегетативной нервной системы позволяет улучшить состояние пациентов в 100 % случаев [39].

Анализ литературных данных показывает, что проведение психосоциальной терапии и психосоциальной реабилитации с детьми и подростками с пограничными нервно-психическими расстройствами позволяет предотвратить или уменьшить формирование состояний социальной дезадаптации, обусловленных недостатком социальной поддержки, несформированностью социальных и учебных навыков, отсутствием стратегии совладания с имеющимися психопатологическими расстройствами [40].

При различных видах деятельности человека большое значение имеет оценка своих переживае-

мых эмоциональных состояний и владение методами их психической регуляции [41]. Действительно, показано эффективное влияние контрастного массажа на характеристики зрительных и соматосенсорных вызванных потенциалов мозга. Эффект методики контрастного массажа связан с воздействием на периферические и центральные звенья нервной системы. Угнетение соматосенсорных вызванных потенциалов мозга можно рассматривать как проявление запредельного (охранительного) торможения, предотвращающего нервную систему от чрезмерного истощения [42].

Согласно данным [43] эффекты психотерапии в снижении симптомов пограничных расстройств личности достаточно малы. В связи с этим, приводятся данные о том, что пограничные расстройства личности характеризуются сильной нестабильностью эмоций, идентичностью и импульсивным поведением. Установлено, что одним из факторов, способствующих возникновению и развитию пограничных расстройств личности, является недостаточная ментализация, т.е., наша способность понимать психические состояния других людей и самого себя. Поэтому дополнение традиционного лечения программами на основе ментализации является обоснованным, так как проведенные исследования показывают, что у пациентов не наблюдалось ухудшения состояния, а наоборот возникало желание продолжать аватар-терапию.

В общебиологическом плане следует остановиться еще на одном обстоятельстве, которое позволит приблизить нас к пониманию патофизиологических механизмов возникновения пограничных расстройств личности. Мы имеем в виду появившиеся в литературе данные о генетических исследованиях по данной проблеме. На сегодняшний момент наше понимание генетической архитектуры пограничных расстройств личности очень ограничено. Генетические исследования пограничных расстройств личности находятся еще на ранней стадии развития. Как считают западные специалисты, генетика будет способствовать разработке новых методов лечения и профилактики пограничных расстройств личности [44].

Следует заметить, что для профилактики и коррекции пограничных состояний психической дезадаптации нами разработана комплексная программа оздоровления студентов. Программа включает в себя применение динамических, изометрических и дыхательных упражнений за рабочим столом, во время микропауз для улучшения мозгового кровообращения, повышения устойчивости организма к недостатку кислорода и нормализации вегетативных функций. Использование массажа биологически активных точек, выполняемого во время регламентированных перерывов, было направлено на оптимизацию функционального состояния обучающихся. Выполнение комплекса общеразвивающих упражнений, применение оздоровительного бега и дождевого душа в конце тренировочного занятия ориентировано на стимуляцию собственных адаптационных возможностей студентов.

Апробация разработанной авторской программы показала ее хорошую эффективность в коррекции дезадаптивных расстройств, возникающих в процессе обучения. Показано, что после трехмесячной оздоровительной тренировки у юношей основной физкультурной группы ($n = 60$) и девушек ($n = 80$) уменьшилось нервно-психическое напряжение, повысилась устойчивость к стрессовым воздействиям, снизилась тревожность. Одновременно наблюдался рост количества лиц с высоким уровнем адаптации к имеющимся социальным условиям, отмечено улучшение вегетативной устойчивости организма учащихся. После оздоровительных мероприятий в основной физкультурной группе установлено достоверное уменьшение количества юношей (до 30,0 %) с нормальным уровнем социальной адаптированности и увеличение (до 66,7 %) – с высоким уровнем социальной адаптированности. Отмечено уменьшение на 13,8 % количества дезадаптированных студенток и увеличение на 22,5 % количества девушек с высокой социальной адаптированностью.

Тестирование физической подготовленности показало, что после корригирующих занятий у студентов возросла мышечная сила кистей рук, улучшились скоростно-силовые способности и показатели силовой выносливости в контрольном упражнении «прыжки через скакалку», увеличилась гибкость и статическая устойчивость организма. Исходя из того, что сокращение мышц происходит под влиянием нервных импульсов, направляемых из двигательных зон коры по пирамидному тракту к иннервируемым мышцам, можно полагать, что применение предложенных средств оздоровления способствовало повышению работоспособности нервных клеток и нервной системы. Это подтверждается и данными нейродинамического теппинг-теста в котором количество движений за 20 с у девушек основной физкультурной группы после корригирующих занятий увеличилось с $117,8 \pm 3,04$ до $136,1 \pm 3,12$ ($p < 0,001$) [45].

Таким образом, следует отметить, что основным способом профилактики и коррекции пограничных психических расстройств является немедикоментозная терапия. В этом отношении хорошо зарекомендовали себя психосоциальная реабилитация, методы психологической саморегуляции, некоторые способы нормализации тонуса вегетативной нервной системы, контрастный массаж и программы, составленные на основе ментализации личности. В тоже время, разработанная нами программа психофизической тренировки с элементами психопотенцирования показала хорошие результаты в нормализации дезадаптивных расстройств у лиц юношеского возраста.

Заключение

Итак, из краткого обобщения данных мы видим, что проблема пограничных психических расстройств по-прежнему является актуальной и, к сожалению, пока не решенной. Она является комплексной, многогранной и относится к медико-биологической области.

Действительно, к настоящему времени можно с большой уверенностью сказать, что биосоциальные и психологические факторы играют первостепенную роль в генезе пограничных расстройств личности. Об этом свидетельствуют многочисленные публикации российских и зарубежных ученых. Однако ключ к пониманию феномена пограничных психических расстройств человека связан с раскрытием общебиологических и патофизиологических принципов деятельности ЦНС, а конкретно – коры больших полушарий и подкорковых образований. Пока не совсем понятно, почему и при каких условиях осуществляется переход в пограничное состояние, какие нервные структуры и функциональные связи в этих процессах задействованы. Возможно, именно наследственно обусловленные свойства нервной системы и ее реактивность являются определяющими факторами в возникновении типов дезадаптации личности. С другой стороны, не совсем понятно и то, как и при каких условиях происходит обратный переход от негрубой психической патологии в состояние нормы.

Сделанный в настоящей работе акцент на роль биологических детерминант в формировании пограничных психических расстройств вовсе не подменяет роль социально-психологических факторов в этиопатогенезе пограничных психических расстройств. Напротив, мы не сомневаемся в том, что именно биосоциальные причины являются основными в возникновении и развития пограничных нарушений личности. Хотелось бы надеяться, что нам в какой-то степени удалось наметить биологические подходы к решению вопросов возникновения и развития пограничных психических расстройств.

Список литературы

1. Чубаровский В.В., Лабутьева И.С., Кучма В.Р. Пограничные психические расстройства у обучающихся подростков: распространенность, факторы риска, основы психогигиены. *Российский педиатрический журнал*. 2018. 21 (3): 161-167.
2. Хананашвили М.М. Теория переходного состояния между нормой и патологией. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2012; (1): 3-12.
3. Александровский А.А. *Предболезненные состояния и пограничные психические расстройства (этиология, патогенез, специфические и неспецифические симптомы, терапия)*. М.: Литтерра; 2010.
4. Артеменков А.А. Социально-гигиенические факторы риска развития дезадаптивных состояний у студентов. *Медицинский альманах*. 2016; 5 (45):192-196.
5. Павлов И.П. *Лекции о работе больших полушарий головного мозга*. М.: Издательство Эксмо; 2017. 480 с.
6. Колмогорова В.В., Буйков В.А. Психическая дезадаптация у населения, подвергшегося облучению в результате радиационных инцидентов на Южном Урале. *Тюменский медицинский журнал*. 2012; (3): 5-6.
7. Елисеев О.П. *Конструктивная типология и психодиагностика личности*. Псков: Издательство Псковского областного института усовершенствования учителей; 1994.
8. Ситаров В.А., Маралов В.Г. Социальная активность личности (уровни, критерии, типы и пути ее развития). *Знание. Понимание. Умение*. 2015; (4): 164-176.
9. Ветлугина Т.П., Лобачева О.А. Динамические аспекты иммунной реактивности при шизофрении. *Успехи современного естествознания*. 2011; (10): 33-34.
10. Шатыр Ю.А., Булатецкий С.В., Улесикова И.В., Мулик

И.Г., Назарова Е.В., Мулик А.Б. Типологизация системной адаптации организма человека. *Российский медико-биологический вестник академика И.П. Павлова*. 2017; 25 (3): 362-372.

11. Barazandeh H., Kissane D.W., Saeedi N., Gordon M. Schema modes and dissociation in borderline personality disorder/traits in adolescents or young adults. *Psychiatry Res*. 2017; 261: 1-6. DOI: 10.1016/j.psychres.2017.12.023
12. Ревенко Е.М., Сальников В.А. Типологические особенности проявления свойств нервной системы у студентов, различающихся уровнем интеллекта. *Казанский педагогический журнал*. 2008; (3): 76-86.
13. Ревенко Е.М., Сальников В.А. Уровень умственных способностей студентов, различающихся типологическими особенностями проявления свойств нервной системы. *Психологическая наука и образование*. 2008; (2): 43-51.
14. Шумских Д.С., Рахманов Р.С. Оценка успеваемости лиц организованного коллектива с различным типом нервной системы. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2013; (5): 35-36.
15. Скидан М.Н., Арделян А.Н., Порубайко Л.Н., Рудеева Т.В., Игнатенко А.Г. Экспресс-диагностика нервной системы студентов-медиков первого курса. *Международный журнал экспериментального образования*. 2014; (4): 241-242.
16. Sperandeo R., Monda V., Messina G., Carotenuto M., Maldonato N.M., Moretto E., Leone E., De Luca V., Monda M., Messina A. Brain functional integration: an epidemiologic study on stress-producing dissociative phenomena. *Neuropsychiatr. Dis Treat*. 2017; 14: 11-19. DOI: 10.2147/NDT.S146250
17. Ядрищенская Т.В., Долгих Н.П. Психофизиологические особенности студентов и когнитивные стили обучения. *Проблемы высшего образования*. 2016; (1): 243-246.
18. Астахов Д.Б. Предстартовый невроз и запредельное торможение центральной нервной системы (ЦНС) в соревновательный период у самбистов. Современные методы диагностики и коррекции. *Экстремальная деятельность человека*. 2016; 3 (40): 21-24.
19. Варенков Н.А., Варенков А.Н. Прогнозирование успешности выступлений подростков-спортсменов на соревнованиях на основе типа нервной системы. *Культура физическая и здоровье*. 2011; (5): 41-43.
20. Козина Ж.Л., Ермаков С.С. Анализ индивидуальных типологических свойств нервной системы студентов в аспекте особенностей реакции на экстремальную ситуацию с помощью методов многомерного анализа. *Физическое воспитание студентов*. 2015; (3): 10-19.
21. Вадюхин П.С. Влияние типов нервной системы на уровень развития физических качеств и познавательных процессов детей 6-7 лет. *Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта*. 2014; (5): 28-30.
22. Агаркова Е.В., Губарева Л.И., Колодийчук Е.В., Ермолова Л.С. Зависимость уровня агрессивности и враждебности от типа темперамента и свойств нервной системы. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2014; 9 (1): 38-42.
23. Артеменков А.А. Тип психофизической дезадаптации как критерий донозологической диагностики здоровья населения. *Здоровье населения и среда обитания*. 2012; 4 (229): 38-40.
24. Артеменков А.А. Общебиологические подходы к системной организации пограничных состояний психической дезадаптации. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2017; (5): 10-16.
25. Чермянин С.В., Корзунин В.А., Юсупов В.В. Методические аспекты диагностики нервно-психической неустойчивости у специалистов экстремальных видов деятельности. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2008; (4): 49-53.
26. Baryshnikov I., Aaltonen K., Suvisaari J., Koivisto M., Heikkinen M., Joffe G., Isometsä E. Features of borderline personality disorder as a mediator of the relation between childhood traumatic experiences and psychosis-like experiences in patients with mood disorder. *Eur. Psychiatry*. 2018; 49: 9-15. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2017.12.005
27. Ogasawara K., Nakamura Y., Kimura H., Aleksic B., Ozaki N. Issues on the diagnosis and etiopathogenesis of mood disorders: reconsidering DSM-5. *J. Neural. Transm.* (Vienna). 2018; 125 (2): 211-222. DOI: 10.1007/s00702-017-1828-2

28. Филиппова Е.А. Школьная дезадаптация и факторы риска пограничных психических расстройств среди учащихся средних и старших классов массовых школ. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2010; 20 (3): 50-53.
 29. Шаповал В.А., Бондарук А.Ф., Голянич В.М. Ценностно-интенциональные и психодинамические корреляты адаптированности курсантов к социально-профессиональной среде обучения. *Вестник Санкт-Петербургского университета МВД России*. 2014; 1 (61): С.208-218.
 30. Грачева Л.В. Психическая дезадаптация лиц с субклиническими нервно-психическими расстройствами в отдаленном периоде пережитого боевого посттравматического стрессового расстройства. *Личность в экстремальных условиях и кризисных ситуациях жизнедеятельности*. 2012; (2): 139-144.
 31. Кадыров Р.В., Мироненко Т.А. Обзор зарубежных исследований ранних дезадаптивных схем в клинической практике. *Вектор науки Тольятинского государственного университета. Серия: педагогика, психология*. 2017; 3 (30): 60-65.
 32. Каракетов Р.А. Исследования свойств нервной системы и свойств темперамента у студентов основных и медицинских групп на занятиях физической культурой. *Научные проблемы гуманитарных исследований*. 2010; (6): 109-113.
 33. Мельгуй Н.В., Колосова О.Н., Николаева Е.Н. Хронобиологические особенности психоэмоционального напряжения студентов в условиях высоких широт. *Наука и образование*. 2016; 3 (83): 91-95.
 34. Артеменков А.А. Формирование запредельных форм психических состояний в учебной деятельности. *Вопросы психологии экстремальных состояний*. 2017; (2): 23-29.
 35. Воробьева Т.Г., Дементьева Е.В., Турманидзе В.Г., Турманидзе А.В. Психофизиологическая адаптация студентов в период обучения. *Вестник Нижегородского государственного университета*. 2016; (2): 59-65.
 36. Алексеева Е.Е. Структура основных свойств нервной системы студентов психолого-педагогических специальностей. *Психология образования в поликультурном пространстве*. 2012; 1 (17): 70-76.
 37. Давоян К.Р. Влияние физической культуры на повышение работоспособности студента. *Вестник Ессентукского института управления, бизнеса и права*. 2015; (10): 90-94.
 38. Смудевич А.Б., Читлова В.В., Германова К.Н. Опыт применения нооклерина (деанола ацеглумат) при терапии когнитивных и астенических расстройств у больных с пограничной психической патологией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2017; 117 (9): 31-36. DOI: 10.17116/jnevro20171179131-36
 39. Кузовков А.Д., Кубланов В.С., Петренко Т.С., Ретюнский К.Ю. Профилактика дезадаптивных расстройств, обусловленных профессиональным стрессом. *Педагогическое образование в России*. 2016; (6):199-205.
 40. Корень Е.В., Марченко А.М. Подходы к психосоциальной терапии и психосоциальной реабилитации детей и подростков с пограничными нервно-психическими расстройствами. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2011; 21 (2): 22-27.
 41. Бабич Е.Г., Рыбакова А.И., Белякова Н.В., Тарасов М.В. Особенности регуляции предстартовых состояний у профессиональных спортсменов. *Теория и практика физической культуры*. 2017; (4): 23-25.
 42. Финченко С.Н., Капилевич Л.В., Васильев В.Н. Влияние контрастного массажа на характеристики зрительных и соматоненсорных вызванных потенциалов головного мозга. *Вестник Томского государственного университета*. 2013; (366): 132-134.
 43. Falconer C.J., Cutting P., Bethan Davies E., Hollis C., Stallard P., Moran P. Adjunctive avatar therapy for mentalization-based treatment of borderline personality disorder: a mixed-methods feasibility study. *Evid. Based Ment. Health*. 2017; 20 (4): 123-127. DOI: 10.1136/eb-2017-102761
 44. Bassir Nia A., Eveleth M.C., Gabbay J.M., Hassan Y.J., Zhang B., Perez-Rodriguez M.M. Past, present, and future of genetic research in borderline personality disorder. *Curr. Opin. Psychol*. 2017; 21: 60-68. DOI: 10.1016/j.copsyc.2017.09.002
 45. Артеменков А.А. Комплексная программа оздоровления студентов с дезадаптивными расстройствами. *Российский медицинский журнал*. 2017; 23 (3): 142-147. DOI: 10.18821/0869-2106-2017-23-3-142-147
1. Chubarovsky V.V., Labutieva I.S., Kuchma V.R. [Borderline mental disorders in students of adolescents: prevalence, risk factors, the basis of psychohygiene]. *Rossiyskii pediatricheskii zhurnal. [Russian Pediatric Journal]*. 2018. 21 (3): 161-167. (in Russian)
 2. Hananashvili M.M. [Theory of the transitional state between norm and pathology]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya. [Pathological physiology and experimental therapy]*. 2012; (1): 3-12. (in Russian)
 3. Aleksandrovsky A.A. [Pulmonary conditions and borderline mental disorders (etiology, pathogenesis, specific and nonspecific symptoms, therapy)]. M.: Litterra; 2010. (in Russian)
 4. Artemenkov A.A. [Socio-hygienic risk factors for the development of disadaptive conditions in students]. *Meditinskii al'manakh. [Medical almanac]*. 2016; 5 (45): 192-196.
 5. Pavlov I.P. [Lectures on the work of the cerebral hemispheres]. M.: Publishing house Eksmo; 2017. 480 p. (in Russian).
 6. Kolmogorova V.V., Buikov V.A. [Mental disadaptation in the population exposed to radiation as a result of radiation incidents in the Southern Urals]. *Tyumenskii meditsinskiy zhurnal. [Tyumen Medical Journal]*. 2012; (3): 5-6. (in Russian).
 7. Eliseev, O.P. [Constructive typology and psychodiagnostics of personality]. Pskov: Publishing house of the Pskov Regional Institute of Teacher Improvement; 1994. (in Russian)
 8. Sitarov V.A., Maralov V.G. [Social activity of the individual (levels, criteria, types and ways of its development)]. *Znaniye. Ponimaniye. Umeniye. [Knowledge. Understanding. Skill]*. 2015; (4): 164-176. (in Russian)
 9. Veltugina T.P., Lobacheva O.A. [Dynamic aspects of immune reactivity in schizophrenia]. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya. [The successes of modern natural science]*. 2011; (10): 33-34. (in Russian)
 10. Shatyr Yu.A., Bulatetsky S.V., Ulesikova I.V., Mulik I.G., Nazarova E.V., Mulik A.B. [Typologization of systemic adaptation of the human body]. *Rossiyskii mediko-biologicheskii vestnik akademika I.P. Pavlova. [Russian medical-biological bulletin of the academician I.P. Pavlova]*. 2017; 25 (3): 362-372. (in Russian)
 11. Barazandeh H., Kissane D.W., Saeedi N., Gordon M. Schema modes and dissociation in borderline personality disorder/traits in adolescents or young adults. *Psychiatry Res*. 2017; 261: 1-6. DOI: 10.1016/j.psychres.2017.12.023
 12. Revenko E.M., Salnikov V.A. Typological features of the manifestation of the properties of the nervous system in students, differing in the level of intelligence. *Kazanskii pedagogicheskii zhurnal. [Kazan Pedagogical Journal]*. 2008; (3): 76-86. (in Russian).
 13. Revenko E.M., Salnikov V.A. [The level of mental abilities of students, differing typological features of the manifestation of the properties of the nervous system]. *Psikhologicheskaya nauka i obrazovaniye. [Psychological science and education]*. 2008; (2): 43-51. (in Russian)
 14. Shumskikh D.S., Rakhmanov R.S. [Evaluation of the progress of individuals of an organized collective with different types of nervous system]. *Zdravookhraneniye Rossiyskoi Federatsii. [Health care of the Russian Federation]*. 2013; (5): 35-36. (in Russian)
 15. Skidan M.N., Ardelyan A.N., Porubayko L.N., Rudeeva T.V., Ignatenko A.G. [Express diagnostics of the nervous system of first-year medical students]. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya. [International Journal of Experimental Education]*. 2014; (4): 241-242. (in Russian)
 16. Sperandeo R., Monda V., Messina G., Carotenuto M., Maldonato N.M., Moretto E., Leone E., De Luca V., Monda M., Messina A. Brain functional integration: an epidemiologic study on stress-producing dissociative phenomena. *Neuropsychiatr. Dis Treat*. 2017; 14: 11-19. DOI: 10.2147/NDT.S146250
 17. Yadrishchenskaya T.V., Dolgikh N.P. [Psychophysiological characteristics of students and cognitive styles of learning]. *Problemy vysshego obrazovaniya. [Problems of higher education]*. 2016; (1): 243-246. (in Russian)
 18. Astakhov D.B. [Prestarting neurosis and transcendental inhibition of the central nervous system (CNS) in the competitive period in the Sambo wrestlers. Modern methods of diagnosis and correction]. *Ekstremal'naya deyatel'nost' cheloveka. [Extreme human activity]*. 2016; 3 (40): 21-24. (in Russian)

19. Varenkov N.A., Varenkov A.N. [Forecasting the success of performances of teenagers-athletes in competitions based on the type of nervous system]. *Kul'tura fizicheskaya i zdorov'ye. [Culture is physical and health]*. 2011; (5): 41-43. (in Russian)
20. Kozina Zh.L., Ermakov S.S. [Analysis of individual typological properties of the nervous system of students in the aspect of the peculiarities of reaction to an extreme situation using methods of multivariate analysis]. *Fizicheskoye vospitaniye studentov. [Physical education of students]*. 2015; (3): 10-19. (in Russian)
21. Vadjukhin P.S. [Influence of types of the nervous system on the level of development of physical qualities and cognitive processes of children 6-7 years]. *Uchenyye zapiski universiteta im. P.F. Lesgafta. [Scientific notes of the P.F. Lesgaft University.]*. 2014; (5): 28-30. (in Russian)
22. Agarkova E.V., Gubareva L.I., Kolodychuk E.V., Ermolova L.S. [Dependence of the level of aggressiveness and hostility on the type of temperament and the properties of the nervous system]. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza. [Medical Gazette of the North Caucasus]*. 2014; 9 (1): 38-42. (in Russian)
23. Artemenkov A.A. [Type of psychophysical disadaptation as a criterion for the preventological diagnosis of public health]. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya. [Health of the population and habitat]*. 2012; 4 (229): 38-40. (in Russian)
24. Artemenkov A.A. [General biology approaches to the systemic organization of borderline states of mental disadaptation]. *Nauchnoye obozreniye. Meditsinskiye nauki. [Scientific review. Medical sciences]*. 2017; (5): 10-16. (in Russian)
25. Chernyanin S.V., Korzunin V.A., Yusupov V.V. [Methodical aspects of diagnosis of neuropsychic instability in specialists of extreme types of activity]. *Mediko-biologicheskiye i sotsial'no-psikhologicheskiye problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh. [Medico-biological and socio-psychological problems of safety in emergency situations]*. 2008; (4): 49-53. (in Russian)
26. Baryshnikov I., Aaltonen K., Suvisaari J., Koivisto M., Heikkinen M., Joffe G., Isometsä E. Features of borderline personality disorder as a mediator of the relation between childhood traumatic experiences and psychosis-like experiences in patients with mood disorder. *Eur. Psychiatry*. 2018; 49: 9-15. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2017.12.005
27. Ogasawara K., Nakamura Y., Kimura H., Aleksic B., Ozaki N. Issues on the diagnosis and etiopathogenesis of mood disorders: reconsidering DSM-5. *J. Neural. Transm. (Vienna)*. 2018; 125 (2): 211-222. DOI: 10.1007/s00702-017-1828-2
28. Filipova E.A. [School disadaptation and risk factors for borderline mental disorders among middle and high school students in mass schools]. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya. [Social and clinical psychiatry]*. 2010; 20 (3): 50-53. (in Russian)
29. Shapoval V.A., Bondaruk A.F., Golyanich V.M. [Value-intentional and psychodynamic correlates of the cadets' adaptability to the social and professional learning environment]. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta MVD Rossii. [Bulletin of the St. Petersburg University of the Ministry of Internal Affairs of Russia]*. 2014; 1 (61): P.208-218. (in Russian)
30. Gracheva L.V. [Mental disadaptation of persons with subclinical neuropsychic disorders in the remote period of the experienced combat post-traumatic stress disorder]. *Lichnost' v ekstremal'nykh usloviyakh i krizisnykh situatsiyakh zhiznedeyatel'nosti. [Personality in extreme conditions and crisis situations of life]*. 2012; (2): 139-144. (in Russian)
31. Kadyrov RV, Mironenko TA [Review of foreign studies of early disadaptive regimens in clinical practice]. *Vektor nauki Tol'yatinskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: pedagogika, psikhologiya. [The vector of science of Togliatin State University. Series: pedagogy, psychology]*. 2017; 3 (30): 60-65. (in Russian)
32. Karaketov R.A. [Investigations of the properties of the nervous system and temperament properties in students of basic and medical groups in physical education]. *Nauchnyye problemy gumanitarnykh issledovaniy. [Scientific problems of humanitarian research]*. 2010; (6): 109-113. (in Russian)
33. Melgui N.V., Kolosova O.N., Nikolaeva E.N. [Chronobiological features of psychoemotional tension of students in high latitudes]. *Nauka i obrazovaniye. [Science and education]*. 2016; 3 (83): 91-95. (in Russian)
34. Artemenkov AA [Formation of the surprising forms of mental states in educational activity]. *Voprosy psikhologii ekstremal'nykh sostoyaniy. [Questions of psychology of extreme states]*. 2017; (2): 23-29. (in Russian)
35. Vorobyova T.G., Dementieva E.V., Turmanidze V.G., Turmanidze A.V. [Psychophysiological adaptation of students in the period of training]. *Vestnik Nizhegorodskogo gosudarstvennogo universiteta. [Bulletin of the Nizhny Novgorod State University]*. 2016; (2): 59-65. (in Russian)
36. Alekseeva E.E. [Structure of the basic properties of the nervous system of students of psychological and pedagogical specialties]. *Psikhologiya obrazovaniya v polikul'turnom prostranstve. [The psychology of education in a multicultural space]*. 2012; 1 (17): 70-76. (in Russian)
37. Davoyan K.R. [The influence of physical culture on improving the student's efficiency]. *Vestnik Yessentukskogo instituta upravleniya, biznesa i prava. [Bulletin of the Yessentuki Institute of Management, Business and Law]*. 2015; (10): 90-94. (in Russian)
38. Smulevich A.B., Chitlova V.V., Germanova K.N. [Nooklerin (deanolil aceglumas) in the treatment of astenic and cognitivedisorders in patients with borderline psychopathological conditions]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. C.C. Korsakova. [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*. 2017; 117 (9): 31-36. DOI: 10.17116/jnevro20171179131-36
39. Kuzovkov A.D., Kublanov V.S., Petrenko T.S., Retyunsky K.Yu. [Prevention of disadaptive disorders caused by occupational stress]. *Pedagogicheskoye obrazovaniye v Rossii. [Pedagogical education in Russia]*. 2016; (6): 199-205. (in Russian)
40. Root E.V., Marchenko A.M. [Approaches to psychosocial therapy and psychosocial rehabilitation of children and adolescents with borderline neuropsychic disorders]. *Sotsial'naya i klinicheskaya psikiatriya. [Social and clinical psychiatry]*. 2011; 21 (2): 22-27. (in Russian)
41. Babich E.G., Rybakova A.I., Belyakova N.V., Tarasov M.V. [Features of regulation of pre-start conditions in professional athletes]. *Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury. [Theory and practice of physical culture]*. 2017; (4): 23-25. (in Russian)
42. Finchenko S.N., Kapilevich L.V., Vasiliev V.N. [The influence of contrast massage on the characteristics of visual and somatosensory caused brain potentials]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. [Bulletin of Tomsk State University]*. 2013; (366): 132-134. (in Russian)
43. Falconer C.J., Cutting P., Bethan Davies E., Hollis C., Stallard P., Moran P. Adjunctive avatar therapy for mentalization-based treatment of borderline personality disorder: a mixed-methods feasibility study. *Evid. Based Ment. Health*. 2017; 20 (4): 123-127. DOI: 10.1136/eb-2017-102761
44. Bassir Nia A., Eveleth M.C., Gabbay J.M., Hassan Y.J., Zhang B., Perez-Rodriguez M.M. Past, present, and future of genetic research in borderline personality disorder. *Curr. Opin. Psychol*. 2017; 21: 60-68. DOI: 10.1016/j.copsyc.2017.09.002
45. Artemenkov A.A. [Comprehensive program for the recovery of students with disadaptive disorders]. *Rossiyskii meditsinskiy zhurnal. [Russian medical journal]*. 2017; 23 (3): 142-147. DOI: 10.18821/0869-2106-2017-23-3-142-147 (in Russian)

Сведения об авторе

Артеменков Алексей Александрович – кандидат биологических наук, доцент кафедры теории и методики физической культуры и спорта факультета биологии и здоровья человека Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Череповецкий государственный университет»

УДК 616-092.6; 616-092.9

Влияние высокодисперсного аэрозоля электронных сигарет на дыхательную систему человека и лабораторных животных (обзор)

Еникеев Д.А., Еникеев О.А., Кузнецов К.О., Ахмадеева Д.Р.,
Садртдинов Т.А., Габдрахманова И.Д., Гарифуллин А.И.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3

В обзорной статье представлены актуальные данные экспериментальных и клинических исследований по изучению воздействия высокодисперсного аэрозоля электронных сигарет на систему дыхания лабораторных животных и человека. Производители электронных сигарет пытаются убедить нас в безопасности использования таких устройств, обширные рекламные компании привлекают с каждым годом всё больше и больше молодых людей несовершеннолетнего возраста. Анализ результатов исследований, приведенных в данной статье, позволяет сделать вывод о том, что использование даже безникотиновых жидкостей для электронных сигарет оказывает серьёзное влияние на здоровье человека, в частности на систему дыхания. Пропиленгликоль (E1520) и глицерин (E422) являются наиболее весомыми компонентами любой жидкости для электронных сигарет, при длительном вдыхании они приводят к раздражению слизистой дыхательных путей и глаз. Также обязательным компонентом в составе жидкости для электронных сигарет являются различные ароматизаторы, которые оказывают цитотоксическое действие на лёгочные макрофаги, что является причиной развития бактериальных и вирусных заболеваний дыхательного тракта. Использование электронных сигарет повышает риск развития онкологических заболеваний и обструктивных заболеваний лёгких, а также приводит к значительному снижению местного иммунитета слизистой дыхательных путей и снижает экспрессию более чем 358 генов.

Ключевые слова: электронные сигареты; дыхательная система; лёгочные макрофаги; пропиленгликоль; никотин.

Для цитирования: Еникеев Д.А., Еникеев О.А., Кузнецов К.О., Ахмадеева Д.Р., Садртдинов Т.А., Габдрахманова И.Д., Гарифуллин А.И. Влияние высокодисперсного аэрозоля электронных сигарет на дыхательную систему лабораторных животных и человека. *Патогенез*. 2019; 17(1): 35-40

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.35-40

Для корреспонденции: Еникеев Дамир Ахметович, e-mail: enikeyev@mail.ru
Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 07.10.2018

Effects of highly dispersed aerosol of electronic cigarettes on the respiratory system of humans and experimental animals (review)

Enikeyev D.A., Enikeyev O.A., Kuznetsov K.O., Akhmadeeva D.R.,
Sadrtidinov T.A., Gabdrahmanova I.D., Garifullin A.I.

Bashkir State Medical University,
Lenina Str. 3, Ufa 450000, Russian Federation

The review presents current experimental and clinical data on the effect of highly dispersed aerosol of electronic cigarettes on the respiratory system of laboratory animals and humans. Manufacturers of electronic cigarettes are trying to argue into safety of using such devices; extensive advertisements attract more and more young people every year. Propylene glycol (E1520) and glycerol (E422) are the most important components of any liquid for electronic cigarette, and when inhaled for a long time they irritate the respiratory tract and eyes. The liquid for electronic cigarettes also contains various flavors, which exert a cytotoxic effect on pulmonary macrophages resulting in development of many bacterial and viral respiratory diseases. Thus, the use of electronic cigarettes increases the risk of cancer and obstructive lung diseases, leads to a significant impairment of natural (local) immunity of the respiratory tract mucosa, and reduces the expression of more than 358 genes.

Keywords: electronic cigarettes; respiratory system; pulmonary macrophages; propylene glycol; nicotine.

For citation: Enikeyev D.A., Enikeyev O.A., Kuznetsov K.O., Akhmadeeva D.R., Sadrtidinov T.A., Gabdrahmanova I.D., Garifullin A.I. [Effects of highly dispersed aerosol of electronic cigarettes on the respiratory system of humans and experimental animals (review)]. *Pathogenesis [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 35-40

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.35-40

For correspondence: Enikeyev Damir Akhmetovich, e-mail: enikeyev@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 07.10.2018

Введение

Электронная сигарета (ЭС) — электронное устройство, создающее высокодисперсный аэрозоль (пар), предназначенный для ингаляции (вдыхания). ЭС может использоваться как в качестве электронного средства доставки никотина (ЭСДН), так и для вдыхания ароматизированного пара (аэрозоля) без никотина. Пар создаётся за счёт испарения специально подготовленной жидкости с поверхности нагревательного элемента и внешне похож на табачный дым. Устройство может быть выполнено в самых различных формах, в том числе и в формах, сходных с обычной сигаретой или курительной трубкой. Устоявшиеся термины процесса использования электронных сигарет: парение, вейпинг (от англ. «vaping») [1].

ЭС стремительно набирает популярность, однако имеется не так много данных о влиянии вдыхания аэрозолей ЭС на здоровье человека. Впервые ЭС, как средство доставки никотина в организм, была произведена в Китае в 2003 г. Затем производство было налажено в Великобритании, а в 2014 году — и в США [2]. Производители ЭС пытаются убедить их потенциальных потребителей в безопасности использования таких устройств, обширные рекламные компании привлекают с каждым годом всё больше и больше молодых людей, в том числе — несовершеннолетнего возраста. В США, например, частота рекламы ЭС с 2011 по 2013 год увеличилась в 3,5 раз — на 256% [2].

При увеличении доступности ЭС повышается число людей, публично потребляющих их, происходит популяризация курения в обществе [3, 4]. Так, производители ЭС и других табачных изделий используют в качестве инструмента маркетинга популярную социальную сеть Twitter с более чем 300 миллионами активных участников. На начальных этапах развития данной сети, в 2009—2010 годы, произошло десятикратное увеличение количества твитов, из которых 93% были рекламными [5]. Производители ЭС использовали твиты для продвижения своих продуктов на фоне все возрастающей борьбы с табакокурением, попытками снизить употребление обычных сигарет, и большей доступности для населения информации о вредности потребления никотина и продуктов горения [6]. Эта реклама потенциально охватывает миллионы пользователей.

В современном обществе факт вреда традиционного курения табака и табачных смесей является несомненным. В данной статье мы приводим обзор исследований, позволяющих оценить влияние ЭС на здоровье человека.

Принцип работы ЭС.

ЭС нагревают и испаряют раствор для получения ингаляционного никотинсодержащего или безникотинового аэрозоля. Для этого используют электрический нагреватель, который обычно подает жидкость через автоматическую систему фитиля. Однако некоторые пользователи ЭС решили напрямую капать жидкость на разомкнутую нагревательную катушку

— по их словам, «для усиления вкуса пара» [1]. Использование таких «прямых капельных форсунок» может привести к большему воздействию токсичных веществ, не являющихся никотином, из-за потенциально более высоких температур, достигаемых катушкой.

Состав жидкостей для ЭС.

Существуют как никотиновые (вред которых неоспорим), так и безникотиновые жидкости для ЭС. Согласно рецептуре, безникотиновые жидкости имеют следующий состав: пропиленгликоль — 0 ÷ 95%, глицерин — 0 ÷ 80%, вода — 0 ÷ 20% и ароматизаторы. Наиболее весомыми компонентами ЭС являются пропиленгликоль (E1520) и глицерин (E422), которые при продолжительном вдыхании могут приводить к раздражению дыхательных путей, глаз, поражению ЦНС [7].

Влияние ЭС на организм человека.

A. Ghosh с коллегами изучали воздействие хронического вейпинга (более 6 месяцев) путем исследования биопсионного материала бронхов, полученного во время бронхоскопии, и смывов бронхоальвеолярного лаважа вейперов, курильщиков и некурящих (контрольная группа) при помощи протеомического анализа [8]. При бронхоскопии обнаружено, что слизистая бронхов вейперов выглядела более эритематозной и раздраженной, чем у некурящих. Протеомический анализ биопсионного материала показал значительные различия между вейперами и контрольной группой и некоторое сходство в изменениях слизистой между вейперами и курильщиками. Изменения включали, например, увеличение уровня муцина MUC5AC, что может свидетельствовать о перерождении эпителия. Это увеличение также имело место при остром и хроническом (4 дня) воздействии аэрозоля пропиленгликоль/растительный глицерин на клеточные культуры эпителия бронхов.

Приведённые данные согласуются с результатами исследования В. Reidel и соавторов [9], в котором был проведен протеомический анализ мокроты вейперов, курильщиков и некурящих. У вейперов были обнаружены общеизвестные специфические маркеры, характерные для курильщиков, в частности, дисфункция фермента нейтрализации АДН3А1. Кроме того, был обнаружен повышенный уровень маркеров, таких как TXN и MMP9, связанных с воспалением и заболеваниями лёгких, что демонстрирует увеличение уровня окислительного стресса и активацию врожденных защитных механизмов. Помимо этого, были обнаружены протеазы нейтрофилов, такие как MMP9 — это медиаторы воспаления, известные как основные факторы в развитии хронических заболеваний легких. Также определен увеличенный уровень муцина MUC5AC у вейперов в сравнении с некурящими.

В другом, похожем, исследовании [10] также были изучены биопсионный материал бронхов и смывы

вы бронхоальвеолярного лаважа 14 курильщиков, 13 некурящих и 12 потребителей электронных сигарет. Был проведен анализ РНК из полученных материалов при помощи nCounter® HumanImmunology v2 Expressionpanel (оцениваются 597 генов, ассоциированных с иммунитетом). По сравнению с некурящими, у курильщиков было обнаружено понижение экспрессии 53 генов. Примечательно, что у вейперов, по сравнению с некурящими, был понижен уровень экспрессии 358 генов, включая и вышеупомянутые 53 гена. Следовательно, у людей, использующих ЭС, подавляется экспрессия генов, отвечающих за местный иммунитет в слизистой полости носа [10].

Большинство дискуссий о воздействии ЭС на здоровье вейперов сосредоточено на канцерогенном действии. Как отмечалось выше, ЭС доставляют более низкие уровни канцерогенов, чем обычные сигареты, и уровень канцерогенов, которые обнаруживаются в организме пользователей ЭС ниже, чем у курильщиков. Однако ЭС поставляют специфический для табака нитрозамин и мощный канцероген лёгких NNK [4- (N-метил-N-нитрозоамино)-1-(3-пиридил)-1-бутанон, также известный как никотин-производный нитрозамин кетон] [11, 12]. У потребителей ЭС канцерогены присутствуют даже в моче [13]. Кроме того, хотя сам никотин не является канцерогеном, он способствует активации роста кровеносных сосудов, которые снабжают опухоли и ускоряют их рост [14].

Сердечно-сосудистые заболевания и рак лёгких являются причиной смерти большинства курильщиков [15], что делает важным оценить влияние использования ЭС на эти и другие болезни. Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что аэрозоль ЭС оказывает неблагоприятное воздействие на функциональные показатели дыхательной системы [16, 17]: выявлено усиление хрипов, кашля или выделения мокроты, обострение астматических симптомов. Повторное воздействие ацролеина, которое получают путем нагревания пропиленгликоля и глицерина в электронных жидкостях, вызывает хроническое лёгочное воспаление, уменьшение защитных функций организма, поражение нейтрофилов, гиперсекрецию слизи и опосредованное протеазой повреждение лёгочной ткани, которые связаны с развитием хронической обструктивной болезни лёгких [18]. Аэрозоль ЭС также подвергает пользователей воздействию сильно окисляющих свободных радикалов [19].

Влияние ЭС на организм животных в модельных экспериментах.

Ученые Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского провели исследование, в котором изучали структурные изменения в легких крыс в результате вдыхания безникотиновой жидкости для ЭС. В исследовании использовали дозу аэрозоля которую в среднем потребляет курильщик за сутки в пересчете на массу крысы [7]. Было выяснено, что даже безникотиновая жидкость оказывает негативное влия-

ние на лёгкие крыс. В остром периоде эксперимента в легких преобладали явления ателектаза, развивался отек межальвеолярных перегородок и было выявлено наличие отека жидкости в просвете альвеол. В подостром периоде отмечалось увеличение участков эмфизематозно измененных альвеол, сохранялся отек межальвеолярных перегородок и воспалительные изменения в бронхах. В хроническом периоде в легких преобладали явления эмфиземы, отмечались истончение межальвеолярных перегородок, расширение терминальных и респираторных бронхиол [7].

Данные ряда других исследований также доказывают, что безникотиновые жидкости обладают цитотоксичностью, которая зависит от концентрации ароматизаторов в её составе [20-22]. Так, токсичность безникотиновых ЭС показана *in vitro* на 5 типах клеток: легочных фибробластах и эмбриональных стволовых клетках человека, нервных стволовых клетках, эмбриональных фибробластах и миокардиоцитах крыс.

Также было проведено изучение влияния ЭС на местный иммунитет слизистой дыхательных путей мышей с использованием затравочной камеры [23]. Обнаружено, что у животных, подвергшихся воздействию пара ЭС, в сыворотке крови был такой же уровень котинина (один из метаболитов никотина, используемый для оценки уровня потребления никотина), как и у людей, потреблявших ЭС. Воздействие ЭС в течение 2 недель значительно увеличило окислительный стресс и вызвало сильное воспаление, опосредованное макрофагами. Мыши, которые были подвергнуты воздействию пара ЭС, по сравнению с контрольной группой, имели намного более низкий клиренс бактерий после интраназального инфицирования стрептококками пневмонии. Этот сниженный клиренс бактерий был опосредован подавленным фагоцитозом макрофагов после контакта с аэрозолем ЭС. Животные, инфицированные вирусом гриппа А и подвергнутые воздействию аэрозоля ЭС, по сравнению с группой, не подвергавшихся воздействию ЭС, имели повышенный титр вируса в легких и увеличение заболеваемости и смертности, обусловленных влиянием вируса. Предполагается, что это обусловлено ингибированием лёгочных антимикробных защитных механизмов [23].

В исследовании А. Ghosh с коллегами [8] для подтверждения клинических данных использовали клеточные культуры эпителия бронхов, а также подвергали воздействию жидкости ЭС мышей. Было обнаружено, что изменения в слизистой носа животных, подвергнутых воздействию аэрозоля ЭС, оказались такими же, как и у вейперов-людей. Исследование клеточных культур также показало, что воздействие аэрозоля пропиленгликоль/растительный глицерин увеличивало ригидность клеточной мембраны, что сопровождалось снижением подвижности молекул белков клеточной мембраны.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что воздействие паров смесей, содержащих никотин, провоцирует развитие эффектов, характер-

ных для хронической обструктивной болезни лёгких: повышенной экспрессии цитокинов, бронхиальной гиперреактивности и разрушению лёгочной ткани. Выяснено, что эти эффекты обусловлены действием никотина как в лёгких мышей, так и в культуре эпителия бронхов. Предполагается, что вдыхаемый никотин помимо зависимости индуцирует развитие заболевания лёгких и дыхательных путей. Эти данные говорят о потенциальной опасности вдыхания сопутствующего никотина при использовании ЭС [24].

ЭС рекламировались как способ употребления никотина, не вызывающий рак. Однако в исследовании Н.В. Lee и соавторов [25] было показано, что в модельных экспериментах у мышей употребления ЭС вызывает повреждение ДНК в лёгких, мочевом пузыре и сердце, а также снижает репарацию ДНК в лёгких. Никотин и продукт его нитрозирования нитрозамин-кетон могут вызывать мутации и раковое перерождение клеток в культурах клеток лёгких и мочевого пузыря человека. Предполагается, что ЭС посредством повреждения ДНК могут приводить к карциноме лёгких и мочевого пузыря, а также к заболеваниям сердца.

В исследовании J.H. Hwang и соавторов нейтрофилы были выделены из крови здоровых людей и изолированы [26]. Затем их помечали форбол-12-миристрат-13-ацетатом, инкубировали с метициллин-резистентным золотистым стафилококком — в контрольной среде и в среде, содержащей осажденный пар ЭС. В пробах содержащих осажденный пар выживаемость бактерий была выше. Интересно отметить, что этот эффект был обусловлен никотином, глицерином и пропиленгликолем, так как воздействии каждого из этих компонентов сопровождается снижением бактерицидной активности нейтрофилов.

Исследования на животных также показали, что аэрозоли ЭС усиливают лёгочное воспаление и окислительные стресс — при одновременном подавлении иммунной системы [16], как это показано и для людей [10]. Использование ЭС нарушает экспрессию рецептора фактора активации тромбоцитов (ФАТ) в носовом эпителии вейперов [27]. ФАТ обладает несколькими важными функциями в организме, в том числе препятствует адгезии *S. pneumoniae*, к клеткам эпителия полости носа. Использование ЭС предрасполагает вейпера к более тяжелым респираторным инфекциям, что было доказано в модельных экспериментах на крысах [26].

Заключение

Проведенный анализ литературы позволяет констатировать, что вдыхание аэрозолей ЭС не является безопасным, как это утверждают табачные компании. Даже использование безникотиновых жидкостей повышает риск развития онкологических заболеваний и обструктивных заболеваний лёгких, а также приводит к значительному снижению местного иммунитета слизистой дыхательных путей и снижает экспрессию ряда генов. Основными повреждающими фак-

торами высокодисперсного аэрозоля ЭС являются ароматизаторы — именно они оказывают выраженную цитотоксичность на большинство делящихся клеток, в том числе нейтрофилов, чем и обусловлена частая заболеваемость органов дыхания у потребителей ЭС. Также нарастанию воспаления способствует акролеин (продукт нагревания пропиленгликоля и глицерина), который увеличивает секрецию слизи, активирует перекисное окисление липидов и принимает участие в повреждении нейтрофилов.

Важно, что негативное влияние ЭС выявлено как в клинических наблюдениях, так и в модельных экспериментах на животных. Однако для человека ЭС может принести дополнительный вред здоровью при попытке «безопасного» отказа от курения, поскольку часть курильщиков после начала использования ЭС не отказываются от обычных сигарет, а употребляют их совместно, приобретая ещё и вкусовую зависимость.

Список литературы

1. *Электронная сигарета. Материал из Википедии — свободной энциклопедии.* Режим доступа: URL: <https://ru.wikipedia.org/?oldid=96000774> Дата обращения: 01.10.2018
2. Dutra L., Glantz S.A. E-cigarettes and conventional cigarette use among U.S. adolescents: a cross-sectional study *JAMA Pediatr.* 2014; 168(7): 610-617. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2013.5488
3. Duke J.C., Lee Y.O., Kim A.E., Watson K.A., Arnold K.Y., Nonnemaker J.M., Porter L. Exposure to electronic cigarette television advertisements among youth and young adults. *Pediatrics.* 2014; 134(1): e29. DOI: 10.1542/peds.2014-0269
4. Kim A. E., Arnold K. Y., Makarenko O. E-cigarette advertising expenditures in the US, 2011–2012. *Am. J. Prev. Med.* 2014; 46(4): 409-412. DOI: 10.1016/j.amepre.2013.11.003
5. Myšlín M., Zhu S.H., Chapman W., Conway M. Using twitter to examine smoking behavior and perceptions of emerging tobacco products. *J. Med. Internet Res.* 2013; 15(8): e174. DOI: 10.2196/jmir.2534
6. Emery S.L., Vera L., Huang J., Szczyrka G., Wanna know about vaping? Patterns of message exposure, seeking and sharing information about e-cigarettes across media platforms. *Tob. Control.* 2014; 23(3): 17-25. DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051648
7. Пикалюк В.С., Шаланин В.В., Журавель Е.А., Асанова З.В. Структурные изменения легких крыс при ингаляции аэрозоля безникотиновой жидкости для электронных сигарет. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2016; 5(2): 41-45.
8. Ghosh A., Coakley R.C., Mascenik T., Rowell T.R., Davis E.S., Rogers K., Webster M.J., Dang H., Herring L.E., Sassano M.F., Livraghi-Buttrico A., Van Buren S.K., Graves L.M., Herman M.A., Randell S.H., Alexis N.E., Tarran R. Chronic e-cigarette exposure alters the human bronchial epithelial proteome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 198(1): 67-76. DOI: 10.1164/rccm.201710-2033OC
9. Reidel B., Radicioni G., Clapp P.W., Ford A.A., Abdelwahab S., Rebuli M.E., Haridass P., Alexis N.E., Jaspers I., Kesimer M. E-cigarette use causes a unique innate immune response in the lung, involving increased neutrophilic activation and altered mucin secretion. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 197(4): 492-501. DOI: 10.1164/rccm.201708-1590OC
10. Martin E.M., Clapp P.W., Rebuli M.E., Pawlak E.A., Glista-Baker E., Benowitz N.L., Fry R.C., Jaspers I. E-cigarette use results in suppression of immune and inflammatory-response genes in nasal epithelial cells similar to cigarette smoke. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2016; 311(1): 135-144. DOI: 10.1152/ajplung.00170.2016
11. Goniewicz M.L., Knysak J., Gawron M., Kosmider L., Sobczak A., Kurek J., Prokopowicz A., Jablonska-Czapla M., Rosik-Dulewska C., Havel C., Jacob P.3rd, Benowitz N. Levels of

- selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tob. Control.* 2014; 23(2): 133-139. DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2012-050859
12. Shahab L., Goniewicz M.L., Blount B.C., Brown J., McNeill A., Alwis K.U., Feng J., Wang L., West R. Nicotine, carcinogen, and toxin exposure in long-term e-cigarette and nicotine replacement therapy users: a cross-sectional study. *Ann. Intern. Med.* 2017; 166(6): 390-400. DOI: 10.7326/M16-1107
 13. Fuller T., Acharya A., Bhaskar G., Yu M., Little S., Tarin T. MP88-14 evaluation of e-cigarettes users urine for known bladder carcinogens. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 507. DOI: 10.1038/s41598-017-19030-1
 14. Heesch C., Jang J.J., Weis M., Pathak A., Kaji S., Hu R.S., Tsao P.S., Johnson F.L., Cooke J.P. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat. Med.* 2001; 7(7): 833-839. DOI: 10.1038/89961
 15. *The Health Consequences of Smoking – 50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General.* Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014. Режим доступа: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK179276/>
 16. Chun L, Moazed F, Calfee C, Matthay M, Gotts J. Pulmonary toxicity of e-cigarettes. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017; 313(2): 193-206. DOI: 10.1152/ajplung.00071.2017
 17. Moazed F., Calfee C.S. The canary in the coal mine is coughing: electronic cigarettes and respiratory symptoms in adolescents. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195(8): 974-976. DOI: 10.1164/rccm.201611-2259ED
 18. Moretto N., Volpi G., Pastore F., Facchinetti F. Acrolein effects in pulmonary cells: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. NY Acad. Sci.* 2012; 1259: 39-46. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06531.x
 19. Goel R., Durand E., Trushin N., Prokopczyk B., Foulds J., Elias R.J., Richie J.P.Jr. Highly reactive free radicals in electronic cigarette aerosols. *Chem. Res. Toxicol.* 2015; 28(9): 1675-1677. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00220
 20. Bahl V., Lin S., Xu N., Davis B., Wang Y.H., Talbot P. Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reprod. Toxicol.* 2012; 34(4): 529-537. DOI: 10.1016/j.reprotox.2012.08.001
 21. Farsalinos K.E., Romagna G., Alliffranchini E., Ripamonti E., Bocchietto E., Todeschi S., Tsiapras D., Kyzopoulous S., Voudris V. Comparison of the cytotoxic potential of cigarette smoke and electronic cigarette vapour extract on cultured myocardial cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013; 10(10): 5146-5162. DOI: 10.3390/ijerph10105146
 22. Romagna G., Alliffranchini E., Bocchietto E., Todeschi S., Esposito M., Farsalinos K.E. Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): comparison with tobacco cigarette smoke extract. *Inhal. Toxicol.* 2013; 25(6): 354-361. DOI: 10.3109/08958378.2013.793439
 23. Sussan T. E., Gajghate S., Thimmulappa R. K., Ma J., Kim J. H., Sudini K., icola Consolini N., Cormier S.A., Lomnicki S., Hasan F., Pekosz A., Biswal, S. Exposure to electronic cigarettes impairs pulmonary anti-bacterial and anti-viral defenses in a mouse model. *PLoS One.* 2015; 10(2): [0116861]. DOI: 10.1371/journal.pone.0116861
 24. Garcia-Arcos I., Geraghty P., Baumlin N., Campos M., Dabo A.J., Jundi B., Cummins N., Eden E., Grosche A., Salathe M., Foronjy R. Chronic electronic cigarette exposure in mice induces features of COPD in a nicotine-dependent manner. *Thorax.* 2016; 71(12): 1119-1129. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-208039
 25. Lee H.W., Park S.H., Weng M.W., Wang H.T., Huang W.C., Lepor H., Wu X.R., Chen L.C., Tang M.S. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(7): 1560-1569. DOI: 10.1073/pnas.1718185115
 26. Hwang J.H., Lyles M., Sladewski K., Enany S., McEachern E., Mathew D.P., Das S., Moshensky A., Bapat S., Pride D.T., Ongeko W.M., Crotty Alexander L.E. Electronic cigarette inhalation alters innate immunity and airway cytokines while increasing the virulence of colonizing bacteria. *J. Mol. Med. (Berl).* 2016; 94(6): 667-679. DOI: 10.1007/s00109-016-13783
 27. Miyashita L., Suri R., Grigg J. The effect of e-cigarettes (EC) on nasal platelet activating factor receptor (PAFR) expression. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 2017; 195: A1029. Режим доступа: http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2017.195.1_MeetingAbstracts.A1029

References

1. [Electronic cigarette]. *Wikipedia, the free encyclopedia.* Available at: URL: <https://ru.wikipedia.org/?oldid=96000774> Retrieved: 01.10.2018 (in Russian)
2. Dutra L., Glantz S.A. E-cigarettes and conventional cigarette use among U.S. adolescents: a cross-sectional study *JAMA Pediatr.* 2014; 168(7): 610-617. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2013.5488
3. Duke J.C., Lee Y.O., Kim A.E., Watson K.A., Arnold K.Y., Nonnemaker J.M., Porter L. Exposure to electronic cigarette television advertisements among youth and young adults. *Pediatrics.* 2014; 134(1): e29. DOI: 10.1542/peds.2014-0269
4. Kim A. E., Arnold K. Y., Makarenko O. E-cigarette advertising expenditures in the US, 2011–2012. *Am. J. Prev. Med.* 2014; 46(4): 409-412. DOI: 10.1016/j.amepre.2013.11.003
5. Myslin M., Zhu S.H., Chapman W., Conway M. Using twitter to examine smoking behavior and perceptions of emerging tobacco products. *J. Med. Internet Res.* 2013; 15(8): e174. DOI: 10.2196/jmir.2534
6. Emery S.L., Vera L., Huang J., Szczypka G., Wanna know about vaping? Patterns of message exposure, seeking and sharing information about e-cigarettes across media platforms. *Tob. Control.* 2014; 23(3): 17-25. DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2014-051648
7. Pikalyuk V.S., Shalanin V.V., Juravel' E.A., Asanova Z.V. [Structural Changes in the Lung of Rats as the Result of the Aerosol Inhalation of Non-nicotine Liquid Used for Electronic Cigarettes]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii. [Journal of Anatomy and Histopathology].* 2016; 5(2): 41-45. (in Russian)
8. Ghosh A., Coakley R.C., Mascenik T., Rowell T.R., Davis E.S., Rogers K., Webster M.J., Dang H., Herring L.E., Sassano M.F., Livraghi-Butrico A., Van Buren S.K., Graves L.M., Herman M.A., Randell S.H., Alexis N.E., Tarran R. Chronic e-cigarette exposure alters the human bronchial epithelial proteome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 198(1): 67-76. DOI: 10.1164/rccm.201710-2033OC
9. Reidel B., Radicioni G., Clapp P.W., Ford A.A., Abdelwahab S., Rebuli M.E., Haridass P., Alexis N.E., Jaspers I., Kesimer M. E-cigarette use causes a unique innate immune response in the lung, involving increased neutrophilic activation and altered mucin secretion. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018; 197(4): 492-501. DOI: 10.1164/rccm.201708-1590OC
10. Martin E.M., Clapp P.W., Rebuli M.E., Pawlak E.A., Glista-Baker E., Benowitz N.L., Fry R.C., Jaspers I. E-cigarette use results in suppression of immune and inflammatory-response genes in nasal epithelial cells similar to cigarette smoke. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2016; 311(1): 135-144. DOI: 10.1152/ajplung.00170.2016
11. Goniewicz M.L., Knysak J., Gawron M., Kosmider L., Sobczak A., Kurek J., Prokopowicz A., Jablonska-Czapla M., Rosik-Dulewska C., Havel C., Jacob P.3rd, Benowitz N. Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. *Tob. Control.* 2014; 23(2): 133-139. DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2012-050859
12. Shahab L., Goniewicz M.L., Blount B.C., Brown J., McNeill A., Alwis K.U., Feng J., Wang L., West R. Nicotine, carcinogen, and toxin exposure in long-term e-cigarette and nicotine replacement therapy users: a cross-sectional study. *Ann. Intern. Med.* 2017; 166(6): 390-400. DOI: 10.7326/M16-1107
13. Fuller T., Acharya A., Bhaskar G., Yu M., Little S., Tarin T. MP88-14 evaluation of e-cigarettes users urine for known bladder carcinogens. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 507. DOI: 10.1038/s41598-017-19030-1
14. Heesch C., Jang J.J., Weis M., Pathak A., Kaji S., Hu R.S., Tsao P.S., Johnson F.L., Cooke J.P. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat. Med.* 2001; 7(7): 833-839. DOI: 10.1038/89961
15. *The Health Consequences of Smoking – 50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General.* Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014. Available at: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK179276/>
16. Chun L, Moazed F, Calfee C, Matthay M, Gotts J. Pulmonary toxicity of e-cigarettes. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2017; 313(2): 193-206. DOI: 10.1152/ajplung.00071.2017

17. Moazed F., Calfee C.S. The canary in the coal mine is coughing: electronic cigarettes and respiratory symptoms in adolescents. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195(8): 974-976. DOI: 10.1164/rccm.201611-2259ED
18. Moretto N., Volpi G., Pastore F., Facchinetti F. Acrolein effects in pulmonary cells: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Ann. NY Acad. Sci.* 2012; 1259: 39-46. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06531.x
19. Goel R., Durand E., Trushin N., Prokopczyk B., Foulds J., Elias R.J., Richie J.P.Jr. Highly reactive free radicals in electronic cigarette aerosols. *Chem. Res. Toxicol.* 2015; 28(9): 1675-1677. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00220
20. Bahl V., Lin S., Xu N., Davis B., Wang Y.H., Talbot P. Comparison of electronic cigarette refill fluid cytotoxicity using embryonic and adult models. *Reprod. Toxicol.* 2012; 34(4): 529-537. DOI: 10.1016/j.reprotox.2012.08.001
21. Farsalinos K.E., Romagna G., Alliffranchini E., Ripamonti E., Bocchietto E., Todeschi S., Tsiapras D., Kyrzopoulos S., Voudris V. Comparison of the cytotoxic potential of cigarette smoke and electronic cigarette vapour extract on cultured myocardial cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2013; 10(10): 5146-5162. DOI: 10.3390/ijerph10105146
22. Romagna G., Alliffranchini E., Bocchietto E., Todeschi S., Esposito M., Farsalinos K.E. Cytotoxicity evaluation of electronic cigarette vapor extract on cultured mammalian fibroblasts (ClearStream-LIFE): comparison with tobacco cigarette smoke extract. *Inhal. Toxicol.* 2013; 25(6): 354-361. DOI: 10.3109/08958378.2013.793439
23. Sussan T. E., Gajghate S., Thimmulappa R. K., Ma J., Kim J. H., Sudini K., Icola Consolini N., Cormier S.A., Lomnicki S., Hasan F., Pekosz A., Biswal, S. Exposure to electronic cigarettes impairs pulmonary anti-bacterial and anti-viral defenses in a mouse model. *PLoS One.* 2015; 10(2): [0116861]. DOI: 10.1371/journal.pone.0116861
24. Garcia-Arcos I., Geraghty P., Baumlin N., Campos M., Dabo A.J., Jundi B., Cummins N., Eden E., Grosche A., Salathe M., Foronjy R. Chronic electronic cigarette exposure in mice induces features of COPD in a nicotine-dependent manner. *Thorax.* 2016; 71(12): 1119-1129. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-208039
25. Lee H.W., Park S.H., Weng M.W., Wang H.T., Huang W.C., Lepor H., Wu X.R., Chen L.C., Tang M.S. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(7): 1560-1569. DOI: 10.1073/pnas.1718185115
26. Hwang J.H., Lyes M., Sladewski K., Enany S., McEachern E., Mathew D.P., Das S., Moshensky A., Bapat S., Pride D.T., Ongkeko W.M., Crotty Alexander L.E. Electronic cigarette inhalation alters innate immunity and airway cytokines while increasing the virulence of colonizing bacteria. *J. Mol. Med. (Berl).* 2016; 94(6): 667-679. DOI: 10.1007/s00109-016-13783
27. Miyashita L., Suri R., Grigg J. The effect of e-cigarettes (EC) on nasal platelet activating factor receptor (PAFR) expression. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195: A1029. Available at: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/ajrccm-conference.2017.195.1-MeetingAbstracts.A1029>

Сведения об авторах:

Еникеев Дамир Ахметович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Еникеев Олег Анатольевич – кандидат медицинских наук, кандидат юридических наук, доцент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кузнецов Кирилл Олегович – студент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ахмадеева Диана Ринатовна – студентка кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Садрtdинов Тимур Аликович – студент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Габдрахманова Инга Данировна – аспирант кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гарифуллин Айрат Ильдарович – студент кафедры патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 616-092

Нарушение когнитивной функции у трансгенных мышей со сниженным уровнем экспрессии патогенной формы белка FUS человека

Лысикова Е.А.¹, Чапров К.Д.¹, Иванова Т.А.¹, Устюгов А.А.¹, Овчинников Р.К.¹, Кухарский М.С.¹, Коршунов Е.А.², Дейкин А.В.^{2,3}, Бачурин С.О.¹, Нинкина Н.Н.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук. 142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии гена» Российской академии наук. 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Актуальность. Патологическая агрегация ДНК/РНК-связывающего белка FUS ассоциирована с развитием бокового амиотрофического склероза (БАС) и фронтотемпоральной лобарной дегенерации (ФТЛД). Трансгенные мыши оригинальной линии FUS[1-359] с нейроспецифической экспрессией аберрантной формы белка FUS человека характеризуются прогрессирующей дегенерацией двигательных нейронов и низкой продолжительностью жизни, что соответствует фенотипу БАС. После четырех генераций обратного скрещивания была выделена сублиния мышей L_FUS[1-359] с увеличенной продолжительностью жизни и отсутствием моторных нарушений.

Цель. Целью исследования являлась характеристика сублинии животных L_FUS[1-359] как модели ФТЛД.

Материалы и методы. Методом ПЦР в реальном времени сравнивалось количество копий трансгенной кассеты и уровни ее экспрессии у животных оригинальной линии и сублинии L-FUS[1-359]. Когнитивные функции животных оценивали в батарее поведенческих тестов.

Результаты. Выявлено, что у животных оригинальной и трансгенной сублиний в геноме присутствует одинаковое число копий трансгенной кассеты, однако уровень ее экспрессии снижен в 10 раз у мышей L_FUS[1-359]. У L_FUS[1-359] мышей, достигших возраста 7 месяцев, были выявлены статистически достоверные отклонения в ряде поведенческих параметров, которые указывают на изменение эмоционального состояния животных.

Заключение. Полученные данные могут свидетельствовать о развитии у данной сублинии медленно прогрессирующей FUS-протеинопатии с фенотипом ФТЛД.

Ключевые слова: протеинопатия; FUS; трансгенные животные; боковой амиотрофический склероз; фронтотемпоральная дегенерация.

Для цитирования: Лысикова Е.А., Чапров К.Д., Иванова Т.А., Устюгов А.А., Овчинников Р.К., Кухарский М.С., Коршунов Е.А., Дейкин А.В., Бачурин С.О., Нинкина Н.Н. Нарушение когнитивной функции у трансгенных мышей со сниженным уровнем экспрессии патогенной формы белка FUS человека. *Патогенез*. 2019; 17(1): 41-49

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.41-49

Для корреспонденции: Лысикова Екатерина Андреевна, e-mail: lysikova_katerina@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания (тема 48.8: «Поиск и исследование механизмов действия нейропротекторов и стимуляторов когнитивных функций» № 0090-2017-0019). Использованы трансгенные животные из коллекции ИФАВ РАН, поддерживаемой программой развития биоресурсных коллекций ФАНО № 0090-2017-0016. Эксперименты по исследованию копийности трансгенной кассеты и уровня ее экспрессии частично финансировано грантом РФФИ 18-15-00357. Часть работы была выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБГ РАН, при поддержке гранта РФФИ 16-04-01805.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 31.08.2018

Transgenic mice with decreased level of the pathogenic form of human FUS protein display cognitive impairment

Lysikova E.A.¹, Chaprov K.D.¹, Ivanova T.A.¹, Ustyugov A.A.¹, Ovchinnikov R.K.¹, Kucharsky M.S.¹, Korshunov E.A.², Deikin A.V.^{2,3}, Bachurin S.O.¹, Ninkina N.N.¹

¹ Institute of Physiologically Active Substances of the Russian Academy of Sciences, Severniy Proezd 1, Chernogolovka of Moscow Region 142432, Russian Federation

² Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, Vavilova Str. 34/5, Moscow 119334, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Background. Pathological aggregation of the DNA/RNA-binding FUS protein is associated with development of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and frontal-temporal lobar degeneration (FTLD). The original strain of transgenic mice, FUS[1-359] with neurospecific expression of the truncated form of human FUS protein is characterized by progressive neurodegeneration of motor neurons and early lethality, which matches the ALS phenotype. After four generations of backcrossing, a substrain of L_FUS [1-359] mice was isolated, which had increased lifespan and no phenotypic motor disorders.

Aim. The aim of the study was to characterize the L_FUS[1-359] substrain as a FTLD model.

Materials and methods. The number of copies and expression levels of the transgenic cassette were compared in the original strain and the transgenic substrain using quantitative RT-PCR. Cognitive function of animals was evaluated using a battery of behavioral tests.

Results. *Animals of the original strain and the transgenic substrain had an equal number of copies of the same transgenic cassette but the level of human FUS expression was 10 times lower in the nervous system of L_FUS[1-359] mice than in the original strain. Results of behavioral tests for the cognitive function showed that L_FUS [1-359] mice developed statistically significant deviations by the age of 7 months, which indicated a change in the emotional condition.*

Conclusion. *The results of the study suggested that L_FUS [1-359] mice may represent a model of slowly progressing FUS-proteinopathy with the FTLD phenotype.*

Keywords: *proteinopathy; FUS; transgenic animals; amyotrophic lateral sclerosis; frontal-temporal lobar degeneration.*

For citation: Lysikova E.A., Chaprov K.D., Ivanova T.A., Ustyugov A.A., Ovchinnikov R.K., Kucharsky M.S., Korshunov E.A., Deikin A.V., Bachurin S.O., Ninkina N.N. [Transgenic mice with decreased level of the pathogenic form of human FUS protein display cognitive impairment]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 41-49 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.41-49

For correspondence: Lysikova Ekaterina Andreevna, **e-mail:** lysikova_katerina@mail.ru

Funding. Study was supported by Russian State assignment (Topic 48.8 «Search and investigation of the mechanisms of neuroprotectors and cognitive functions stimulators» № 0090-2017- 0019). Transgenic animals used in the study were provided by Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences «Transgen» collection, developed within project No. 0090-2017-0016. The study of the number of transgenic cassette copies and level of its expression was partially supported by the Russian Science Foundation (project No 18-15-00357). Part of the work was performed using the equipment of Center for collective use of IBG RAS, supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 16-04-01805).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 31.08.2018

Введение

Улучшение качества жизни людей за последние десятилетия привело к увеличению продолжительности жизни и диагностированию все большего количества нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), характерных для пациентов пожилого возраста [1]. Среди наиболее распространенных и социально значимых НДЗ существенную часть составляют патологии, вызываемые нарушением функционирования и метаболизма определенных белков, что сопряжено с их агрегацией и формированием характерных патогистологических включений. Тип патологии, обозначаемый общим термином «протеинопатия» [2], является важной составляющей патогенеза таких нейродегенеративных заболеваний, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, деменция с рассеянными тельцами Леви, хорей Гентингтона, боковой амиотрофический склероз (БАС), фронтотемпоральная лобарная нейродегенерация (ФТЛД) и др. [3]. Различные НДЗ прогрессируют с разной скоростью. Одной из самых быстро прогрессирующих протеинопатий является БАС, для которого средняя продолжительность жизни после постановки диагноза составляет около 3 лет [4]. 90% случаев заболевания составляют спорадические формы, остальные 10% наследуются в основном по аутосомно-доминантному типу [5]. Среди генов, ассоциированных с наследственными и спорадическими формами БАС, описаны гены SOD1 (супероксиддисмутазы1), C9ORF72 с мультипликацией нуклеотидного повтора на 9-й хромосоме, ДНК/РНК-связывающие белки TDP-43 (Transactivation-responsive DNA-binding Protein-43) и FUS (fused in sarcoma), и ряд других менее изученных мутаций [6]. 5% всех наследственных случаев БАС связаны с мутацией в гене FUS с характерными FUS-реактивными включениями, обнаруживаемыми при патогистологическом анализе в цитоплазме нейронов [7]. Интересной особенностью патологии

РНК-связывающих белков TDP43 и FUS является их способность дифференциально вовлекаться в нейродегенеративный процесс, локализованный в двух различных анатомических структурах. Так, FUS- и TDP-протеинопатия может быть локализована в двигательных нейронах спинного мозга и двигательной коре головного мозга, что характерно для БАС. В других случаях FUS- и TDP-протеинопатия может быть ограничена лишь фронтальными и височными долями коры головного мозга, что характерно для НДЗ с абсолютно иным фенотипом – ФТЛД [8]. В отличие от БАС, при ФТЛД дегенерация лобных и височных долей головного мозга вызывает, в первую очередь, нарушения поведения и речи [8]. ФТЛД в ряду других деменций имеет относительно ранний дебют клинической манифестации заболевания, поражая пациентов преимущественно в возрасте до 65 лет [8, 9]. Описаны и редкие сочетанные формы, когда у пациентов одновременно наблюдаются симптомы как БАС, так и ФТЛД [10, 11]. Основные БАС- и ФТЛД-ассоциированные мутации в гене FUS локализованы в экзоне, кодирующем сигнал ядерной локализации, в результате чего белок меняет компартиментализацию и накапливается в цитоплазме, где он агрегирует [7]. Цитотоксический эффект нарушения компартиментализации обусловлен патологией метаболизма FUS и изменением регуляции процессинга РНК, транскрипции, сплайсинга и образования функциональных стресс-гранул, поскольку именно эти процессы в норме регулируются белком FUS.

Механизмы, которые обеспечивают локализацию патологического процесса либо в двигательных нейронах, либо во фронтотемпоральной коре, остаются неизвестными. Однако установлено, что у белков FUS и TDP43 мутации, приводящие к патогенным состояниям, локализованы, в основном, в сигнале ядерного связывания на N-конце молекулы, а укороченная форма белка TDP43 25 кДа выявлена

у больных в составе патогистологических включений. В экспериментальных моделях показано, что укороченные формы FUS и TDP43 способны инициировать и поддерживать протеинопатию. Описанная в статье Кухарского с соавт. модельная TDP43-протеинопатия в клеточной культуре нейробластомы человека характеризуется образованием TDP43-реактивных структур, имитирующих патогистологические включения, выявляемые в аутопсийном материале больных с рядом форм ФТЛД [12].

Описаний моделей ФТЛД на основе FUS-протеинопатии в литературе мы не обнаружили. В данной работе мы сообщаем о создании линии трансгенных мышей L-FUS[1-359] с прогрессирующей FUS-протеинопатией без клинической симптоматики БАС, но с прогрессирующим нарушением когнитивных функций, что может быть свидетельством манифестации фенотипа ФТЛД у данной линии мышей.

Материалы и методы исследования

В работе использовали линию генетически модифицированных мышей FUS[1-359], в нервной системе которых экспрессируется трансгенная последовательность, кодирующая аберрантную форму белка FUS человека с удаленным сигналом ядерной локализации под нейронспецифичным промотором Thy-1 [13, 14].

Колонии мышей содержали в условиях искусственно регулируемого светового дня (12 часов темного и 12 часов светлого времени) при постоянной температуре 22°C. Все работы с животными проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» от 1.04.2016 № 199н.

Генотипирование животных осуществляли методом ПЦР в реальном времени. Геномную ДНК выделяли из биопсий уха с помощью наборов «Wizard genomic DNA» (Promega). ПЦР в реальном времени проводили в анализаторе «CFX-96» (Biorad), в качестве матрицы использовали 0,1 мкг геномной ДНК. Для детектирования трансгенной кассеты использовали праймеры к последовательности гена FUS человека: прямой 5'TCTTTGTGCAAGGCCTGGGT3' и обратный 5'TAATCATGGGCTGTCCCGTT3'. В качестве внутреннего контроля использовали ген глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы мыши – GAPDH, амплификацию которого проводили с помощью праймеров: прямой 5'CACTGAGCATCTCCCTCA-CA3' и обратный 5'GTGGGTGCAGCGAАСТТТAT3'.

Анализ экспрессии трансгенной кассеты выполняли методом RT-PCR в реальном времени. РНК выделяли с использованием наборов «RNAeasy Mini Plus» (Quiagen, США). Для синтеза комплементарной цепи ДНК использовали 500 нг РНК в реакции и проводили обратную транскрипцию с помощью наборов MMLV (Евроген, Россия). Полученную кДНК использовали в качестве матрицы для последующей амплификации с помощью ПЦР в реальном времени.

В поведенческих тестах использовали самцов L-FUS[1-359] и животных дикого типа в возрасте 3

и 7 месяцев. Тест «Строительство гнезда» проводили в комнатах постоянного содержания мышей, тесты «Открытое поле» и «О-лабиринт» выполняли в специально оборудованных аппаратных помещениях. Для проведения теста «Строительство гнезда» в новую клетку к животному вечером помещали строительный материал, представляющий собой квадрат ваты размером 5 × 5 см и толщиной 1 см. Оставляли строительный материал в клетке на ночь, утром проводили оценку гнезда по 5-бальной шкале, где 0 – нет взаимодействия с материалом, 5 – построенное гнездо со стенами и крышей [15]. Анализ передвижений животных с помощью теста «Открытое поле» проводили в автоматизированной фотосенсорной установке «TruScan» (Coulbourn, США) при освещении 25 Лк. Основание установки размером 30 × 30 см условно разделено на 64 квадрата и имеет 16 отверстий диаметром 20 мм. Регистрировали параметры двигательной активности (общее время движения в с; общее пройденное расстояние в см; средняя скорость всех передвижений в см / с), тревожности (время покоя в с; расстояние пробежек в центре в см; время в центре в с; число пересечений центра), исследовательской реакции (число стоек; число заглядываний в норки) [16].

Для проведения теста «О-образный лабиринт» использовали установку фирмы «OpenScience» (Россия) [17]. Тестирование проводили при освещении 25 Лк. Животных помещали в центр огороженного сектора и в течение 5 мин регистрировали следующие параметры: латентное время выхода в открытый сектор, с; количество выглядываний в открытый сектор; количество выходов в открытый сектор; общее время нахождения в открытом секторе, с.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «GraphPad Prism Software 7.0». (GraphPad Software Inc, США). Нормальность выборки определяли с помощью критерия Д'агостино-Пирсона. Для дальнейшего анализа использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. При $p < 0,05$ принимали гипотезу о статистической значимости различий по исследуемому признаку.

Результаты исследования

Оригинальная линия мышей FUS[1-359] изначально велась на генетическом фоне C57Bl6J [13]. Для перевода на новый генетический фон гемизиготных по трансгенной кассете самцов FUS[1-359] скрещивали с самками дикого типа аутбредной линии CD1. Начиная с поколения F3 регистрировали основные показатели прогрессии модельного заболевания у потомков с целью выявления возможного изменения фенотипа вследствие изменения генетического фона трансгенных животных. Регистрировали возраст дебюта симптоматической стадии, ее продолжительность и продолжительность жизни трансгенных животных. Практически у всех мышей, полученных в серии обратных скрещиваний, сохранялись основные характеристики фенотипа исходной линии, указывающие на прогрессирующий нейродегенератив-

ный процесс с преимущественным поражением двигательных нейронов и переходом в первой половине жизни пресимптоматической стадии модельного заболевания в симптоматическую. Модельное заболевание, также как и у мышей оригинальной линии на генетическом фоне C57Bl6J, характеризовалось стремительным течением симптоматической стадии и ранней 100%-ной летальностью трансгенных животных. Однако в 4-м поколении был выявлен гемизиготный по трансгенной кассете самец (F4-L), у которого с возрастом не развивалась двигательная патология и отсутствовали признаки модельного заболевания животных линии FUS[1-359]. Более того, в следующем поколении среди семи потомков данного самца не было зарегистрировано особей с фенотипом оригинальной линии FUS[1-359]. Генотипирование потомков методом конвенционной ПЦР с использованием специфичных для данной трансгенной кассеты праймеров показало, что 4 особи (F5.1-L, F5.2-L, F5.4-L и F5.6-L) несли трансгенную кассету FUS[1-359], поскольку на матрице геномной ДНК, полученной из биопсий тканей данных животных,

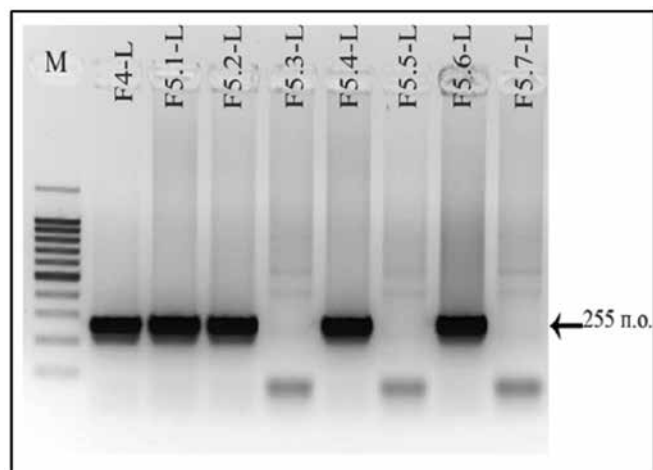


Рис. 1. Выявление трансгенной кассеты в геноме мышей, утративших фенотип оригинальной линии FUS[1-359]: генотипирование потомков общего фандера (F4-L) с измененным фенотипом: F5.1-L, F5.2-L, F5.3-L, F5.4-L, F5.5-L, F5.6-L, F5.7-L методом конвенционного ПЦР. Положение фрагмента ожидаемого размера 255 п.о. указан стрелкой.

амплифицировался характерный фрагмент размером 255 т.п.о. (**рис. 1**).

Самцы F5.1-L и F5.4-L были использованы в следующем цикле обратного скрещивания с CD1 самками дикого типа. Всего было проведено по 3 скрещивания и получено 28 потомков F5.1-L и 41 потомок F5.4-L, анализ генотипов которых показал, что трансгенную кассету FUS[1-359] несли по 17 животных от обоих обратных скрещиваний (**табл. 1**).

Таким образом, было получено всего 34 трансгенных животных с инвертированным фенотипом, проживших более 18 месяцев без признаков двигательной дисфункции. Обратное скрещивание этих животных проводилось отдельно и параллельно с основной трансгенной линией. К седьмому поколению была получена сублиния трансгенных L-FUS[1-359] мышей с увеличенной продолжительностью жизни и отсутствием выраженной двигательной патологии. Проведенный сравнительный анализ количества копий трансгенной кассеты у животных сублинии L-FUS[1-359] и исходной оригинальной линии, которую мы обозначили S-FUS[1-359], показал, что их количество одинаково в обеих сублиниях. Таким образом, изменение фенотипа не является результатом выброса части трансгенной вставки из генома L-FUS[1-359] мышей в поколениях.

Для того, чтобы установить, изменился ли уровень экспрессии трансгенной кассеты у животных сублинии L-FUS[1-359] по сравнению с ее уровнем у животных оригинальной линии S-FUS[1-359], была выделена тотальная РНК из поясничного отдела спинного мозга самцов обеих сублиний возрастом 56 дней, после чего на матрице РНК была синтезирована комплементарная ДНК, которую использовали для амплификации в реакции ПЦР в реальном времени (**рис. 2**). Сравнительный анализ уровней экспрессии трансгенной кассеты в поясничном отделе спинного мозга L-FUS[1-359] и S-FUS[1-359] мышей выявил его снижение в новой сублинии почти в 10 раз. При этом уровень экспрессии трансгенной кассеты у L-FUS[1-359] мышей оставался достаточно высоким.

Для выявления возможных проявлений когнитивных отклонений у мышей сублинии L-FUS[1-359] животные были исследованы в батарее поведенческих тестов. Выявлено, что способность построить

Таблица 1.

Распределение генотипов в потомстве трансгенных самцов F5.1-L и F5.4-L после скрещивания с самками дикого типа.

♀ №	Потомство ♂ F5-1L		Потомство ♂ F5-4L	
	содержит трансгенную кассету	не содержит трансгенную кассету	содержит трансгенную кассету	не содержит трансгенную кассету
1	5	4	6	7
2	6	3	4	9
3	6	4	7	8
Количество потомков	17	11	17	24
Количество трансгенных животных 34			Количество животных дикого типа 35	

гнездо, оцениваемая по 5-бальной системе валидации качества построенного гнезда, не был изменен у L-FUS[1-359] мышей ни в группе молодых мышей в возрасте 3 месяцев, ни в группе возраста 7 месяцев.

Результаты исследования локомоторной и когнитивной функций у трансгенных животных и контрольной группы дикого типа в тесте «Открытое поле» представлены в табл. 2. Видно, что в возрасте 3 месяцев уровень двигательной активности у трансгенных животных не был уменьшен по сравнению с животными дикого типа, что указывает на отсутствие у них двигательной патологии. По показателям количества стоек и по числу заглядываний в норки L-FUS[1-359] мыши не отличались от контрольных животных дикого типа. Однако в возрасте 7 месяцев у L-FUS[1-359] животных были выявлены изменения ряда показателей поведенческого тестирования. Так, общее время движения и пройденное расстояние в камере «Открытое поле» были статистически значимо увеличены по сравнению с этими параметрами у контрольных мышей дикого типа. При этом значение времени в покое, соответственно, было снижено, что свидетельствует о повышении их общей двигательной активности L-FUS[1-359]. При этом время и расстояние, проведенные в центре камеры, являющиеся показателями тревожности у животных, находились у L-FUS[1-359] мышей на уровне животных дикого типа.

Изменения тревожного поведения у L-FUS[1-359]

мышей исследовали в приподнятом «О-лабиринте», в котором присутствуют открытые и закрытые секторы, моделирующие опасные и безопасные зоны (табл. 3). При измененном тревожном поведении животные с повышенной тревожностью обычно проводят меньше времени в открытых участках лабиринта и больше времени в закрытых «безопасных» отделах. У молодых (3-месячных) L-FUS[1-359] мышей тревожное поведение не было изменено ни по показате-

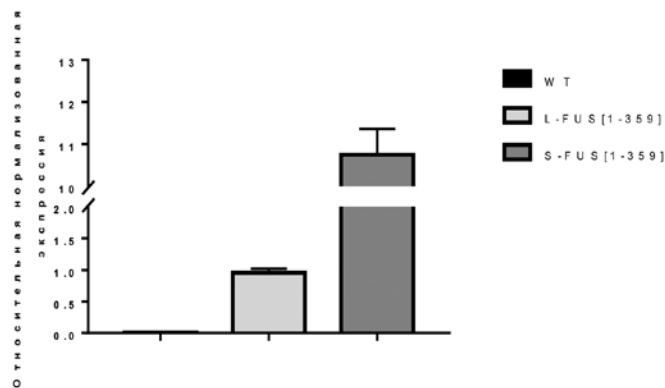


Рис. 2. Сравнение уровней экспрессии трансгенной кассеты в тканях поясничного отдела спинного мозга мышей сублиний L-FUS[1-359] и S-FUS[1-359] методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Таблица 2.

Поведенческий анализ L-FUS[1-359] мышей в камере «Открытое поле».

Показатель	Опыт L_FUS[1-359]	Контроль WT	p
3 месяца			
общее время движения, сек	276,5 (269,8; 284,8)	271,5 (267,5; 278,5)	0,209
общее пройденное расстояние, см	1308 (1028; 1477)	1095 (899,1; 1466)	0,481
средняя скорость, см/сек	4,32 (3,37; 4,885)	3,6 (2,945; 4,845)	0,481
время покоя, сек	23,5 (15,25; 30,25)	28,5 (21,5; 32,5)	0,209
общее расстояние в центре, см	209,3 (136,5; 261,5)	256,1 (209,8; 297,1)	0,166
общее время в центре, сек	78 (63,75; 104,3)	107 (83; 121)	0,109
число пересечений центра	32 (24; 36,25)	31 (21,25; 36,25)	0,984
число стоек	56,5 (32,75; 63,25)	44 (33,5; 58)	0,403
число заглядываний в норки	8,5 (5,25; 10,75)	8,5 (5,75; 11,25)	0,867
7 месяцев			
общее время движения, сек	278 (271,5; 282,5)	255 (228,3; 270,8)	0,008
общее пройденное расстояние, см	1363 (1028; 1555)	1011 (730,7; 1207)	0,013
средняя скорость, см/сек	4,5 (3,4; 5,15)	3,35 (2,4; 4)	0,013
время покоя, сек	22 (17,5; 28,5)	45 (29,25; 71,75)	0,007
общее расстояние в центре, см	319,4 (253,1; 384,1)	245 (177,3; 441,1)	0,674
общее время в центре, см	133 (99,5; 154,3)	126,5 (96,75; 159)	0,871
число пересечений центра	35 (30,75; 37,5)	29 (20,5; 34)	0,047
число стоек	47 (38,5; 53,25)	35,5 (23,75; 49,25)	0,096
число заглядываний в норки	8,5 (6; 11,75)	8,5 (5,25; 14)	0,935

Примечание: n = 10 для каждого генотипа и возрастной группы; статистическая обработка – по критерию Манна-Уитни.

лям количества выглядываний и выходов в открытый сектор, ни по показателям латентного времени до выхода в открытый сектор, ни по времени, проведенном в открытом секторе. Однако в возрасте 7 месяцев у L-FUS[1-359] мышей выявлялась тенденция к увеличению латентного времени выхода в открытый сектор, что может быть признаком тревожности.

Обсуждение результатов

Нарушение метаболизма ДНК/РНК-связывающего белка FUS, сопровождающееся изменением его локализации в клетке и формированием патогенных агрегатов, обнаружено при двух нейродегенеративных заболеваниях – боковом амиотрофическом склерозе и фронтотемпоральной лобарной дегенерации [7]. Молекулярный механизм FUS-протеинопатии для двух этих заболеваний абсолютно идентичен, однако различна локализация нейродегенеративного процесса: в случае БАС он поражает двигательные нейроны, а при ФТЛД – нейроны фронтальных и височных долей коры головного мозга. Вторым существенным отличием в патогенезе двух этих заболеваний является разная скорость прогрессии нейродегенеративного процесса при БАС и при FUS-протеинопатии. В то время, как БАС является одним из наиболее стремительно протекающих нейродегенеративных заболеваний, ФТЛД в большинстве случаев протекает гораздо медленнее. Чем объясняется различная скорость прогрессии FUS-протеинопатии при этих двух заболеваниях, остается неясным. В модельных системах также не удается переключить патогенетический субтип FUS-протеинопатии с быстро прогрессирующего на медленно текущий. К настоящему времени выявлены химические соединения, которые способны замедлять прогрессию FUS-протеинопатии в трансгенных модельных животных, но они не способны изменять локализацию патологического процесса. Молекулярный механизм их действия не изучен [18, 19]. Исследования вариантов

FUS-протеинопатии существенно осложняются тем, что хотя и создан ряд моделей БАС, но практически отсутствуют животные модели с фенотипом ФТЛД [20].

В данной работе сообщается об изменении фенотипа у мышей трансгенной линии FUS[1-359] в процессе их перевода с генетического фона C57Bl6J на CD1. У мышей оригинальной линии FUS[1-359] с возрастом развивается FUS-протеинопатия с локализацией патологического процесса в двигательных нейронах и воспроизводится клиническая картина БАС. В геном этих мышей встроена трансгенная кассета под тканеспецифическим промотором Thy1, который обеспечивает экспрессию в нейронах трансгенных мышей вектора с кДНК гена FUS человека с удаленным участком, кодирующим аминокислоты с 359 по 526 [13]. Отсутствие в экзогенном белке домена ядерной локализации ведет к перераспределению белка FUS из ядра в цитоплазму, как это выявлено при патогистологическом анализе у больных с БАС и ФТЛД. В оригинальной модели FUS[1-359] были подробно изучены и описаны все составляющие патогенеза БАС, однако ни признаки ФТЛД, ни сам факт возможной локализации нейродегенеративного процесса в лобных и височных долях FUS[1-359] мышей не были исследованы. Тем не менее, после 4 поколений скрещиваний из линии FUS[1-359] выделилась сублиния трансгенных животных, у которых в геноме присутствовала трансгенная кассета, но отсутствовал фенотип БАС. Животных разделили на две сублинии в соответствии с продолжительностью их жизни, обозначив как S сублинию с трансгенной кассетой, ассоциированной с фенотипом БАС и короткой продолжительностью жизни, и как L сублинию с увеличенной продолжительностью жизни и возможным фенотипом ФТЛД. Поскольку анализ геномной ДНК показал, что число копий трансгенной кассеты было одинаково в геномах обеих сублиний мышей, то

Таблица 3.

Анализ поведения L-FUS[1-359] мышей в тесте приподнятый «О-лабиринт».

Показатель	Опыт L_FUS[1-359]	Контроль WT	Значение P
3 месяца			
время в открытом секторе, сек	29,34 (9,448; 43)	9,225 (2,115; 57,89)	0,577
число выходов в открытый сектор	5,5 (2; 7,25)	2 (0,75; 10,75)	0,378
число выглядываний в открытый сектор	23 (20; 28)	25 (23,25; 29,5)	0,361
латентное время выхода в открытый сектор, сек	10,07 (5,55; 50,75)	7,155 (3,893; 50,3)	0,795
7 месяцев			
время в открытом секторе, сек	28,11 (9,063; 70,13)	25,91 (2,108; 93,76)	0,778
число выходов в открытый сектор	2,5 (1,75; 17,25)	3,5 (0,75; 15,25)	0,751
число выглядываний в открытый сектор	23,5 (16; 31,25)	21 (13,75; 24,25)	0,288
латентное время выхода в открытый сектор, сек	33,34 (6,158; 77,32)	8,965 (1,5; 21,74)	0,138

Примечание: n = 10 для каждого генотипа и возрастной группы; статистическая обработка – по критерию Манна-Уитни.

Список литературы

можно было сделать заключение, что изменение фенотипа у L-FUS[1-359] животных не является результатом выброса части копий трансгенной кассеты. При этом уровень экспрессии экзогенного FUS человека, исследованный методом ОТ-ПЦР в реальном времени, был в 10 раз снижен в спинном мозге мышей линии L-FUS[1-359] по сравнению с животными исходной линии S-FUS[1-359]. Возможно, при таком уровне экспрессии снижение содержания эктопического белка в цитоплазме нейронов делает недостаточной его концентрацию для образования FUS-реактивных включений в двигательных нейронах и развития фенотипа БАС. С другой стороны, увеличение продолжительности жизни трансгенных животных в сублинии L-FUS[1-359] дает достаточно времени для достижения нейродегенеративным процессом стадии, на которой происходит поражение нейронов фронтальных и темпоральных отделов коры головного мозга мышей.

Анализ поведения не выявил особенностей животных сублинии L-FUS[1-359] в возрасте 3 месяцев, что говорит о недостаточной степени поражения нейронов коры головного и компенсированной стадии FUS-протеинопатии у молодых мышей. С возрастом у этих животных появляются поведенческие признаки прогрессии нейродегенеративного процесса, обусловленного FUS-протеинопатией – переходу модельного заболевания в симптоматическую стадию, что было выявлено в тесте «Открытого поля» по двигательной и исследовательской, и может быть обусловлено изменением эмоционального статуса трансгенных L-FUS[1-359] мышей. Однако для более детального изучения природы выявленных изменений в поведении необходимы дальнейшие исследования.

Сублиния S-FUS[1-359] характеризуется тяжелым поражением двигательных нейронов и выраженными ранними нарушениями двигательной функции. Проведение поведенческих тестов на животных данной сублинии не представляется возможным. До возраста 7 месяцев животные сублинии S-FUS[1-359] не доживают. А в возрасте 3 месяцев, как следует из полученных нами результатов тестирования, у животных еще не наблюдается когнитивных нарушений, характерных для деменций.

Заключение

Таким образом, полученные нами данные позволяют полагать, что при медленно прогрессирующей FUS-протеинопатии у L-FUS[1-359] мышей может иметь место переключение локализации нейродегенеративного процесса на кору головного мозга и с возрастом развиваться фенотип ФТЛД. Результаты проведенного анализа трансгенных мышей сублинии L-FUS[1-359] дают достаточно оснований для проведения более детального исследования их когнитивных функций и эмоционального состояния, что потребует дополнительных методов тестирования на репрезентативных когортах в различном возрасте, включая стареющих животных.

1. Грудень М.А., Давыдова Т.В., Воскресенская Н.И., Елистратова Е.И., Ветрилэ Л.А., Фомина В.Г., Морозова-Роше Л.А., Шерстнев В.В., Севелл Р.Д.Е. Нейроиммунные маркеры когнитивного дефицита при болезни Альцгеймера. *Патогенез*. 2015; 13(3): 18-22.
2. Шелковникова Т.А., Куликова А.А., Цветков Ф.О., Петерс О., Бачурин С.О., Бухман В.Л., Нинкина Н.Н. Протеинопатии – формы нейродегенеративных заболеваний, в основе которых лежит патологическая агрегация белков. *Молекулярная биология*. 2012; 46(3): 402-415.
3. Golde T.E., Borchelt D.R., Giasson B.I., Lewis J. Thinking laterally about neurodegenerative proteinopathies. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(5): 1847-1855. DOI: 10.1172/JCI66029
4. Bourke S.C., Tomlinson M., Williams T.L., Bullock R.E., Shaw P.J., Gibson G.J. Effects of non-invasive ventilation on survival and quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* 2006; 5(2): 140-147. DOI:10.1016/S1474-4422(05)70326-4
5. Vajda A., McLaughlin R.L., Heverin M., Thorpe O., Abrahams S., Al-Chalabi A., Hardiman O. Genetic testing in ALS: A survey of current practices. *Neurology*. 2017; 88(10): 991-999. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003686
6. Bräuer S., Zimyanin V., Hermann A. Prion-like properties of disease-relevant proteins in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neural Transm. (Vienna)*. 2018; 125(4): 591-613. DOI: 10.1007/s00702-018-1851-y
7. Ефимова А.Д., Овчинников Р.К., Роман А.Ю., Мальцев А.В., Григорьев В.В., Ковражкина Е.А., Скворцова В.И. Белок FUS: физиологические функции и роль в развитии бокового амиотрофического склероза. *Молекулярная биология*. 2017; 51(3): 341-351. DOI: 10.7868/S0026898417020094
8. Ratnavalli E., Brayne C., Dawson K., Hodges J.R. The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology*. 2002; 58(11): 1615-1621.
9. Van Langenhove T., van der Zee J., Van Broeckhoven C. The molecular basis of the frontotemporal lobar degeneration-amyotrophic lateral sclerosis spectrum. *Ann. Med.* 2012; 44(8): 817-828. DOI: 10.3109/07853890.2012.665471
10. Ling S.C., Polymenidou M., Cleveland D.W. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron*. 2013; 79(3): 416-438. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.07.033
11. Яхно Н.Н., Головкова М.С., Преображенская И.С., Захаров В.В. Синдром БАС-деменция лобного типа. *Неврологический журнал*. 2002; 7(4): 12-17.
12. Кухарский М.С., Хританкова И.В., Лыткина О.А., Овчинников Р.К., Устюгов А.А., Шелковникова Т.А., Броневицкий Е.В., Кохан В.С., Нинкина Н.Н. Разработка клеточной модели TOP43-протеинопатии для поиска подходов к патогенетической терапии фронтотемпоральной лобарной дегенерации. *Патогенез*. 2013; 11(1): 52-59.
13. Shelkovnikova T.A., Peters O.M., Deykin A.V., Connor-Robson N., Robinson H., Ustyugov A.A., Bachurin S.O., Ermolkevich T.G., Goldman I.L., Sadchikova E.R., Kovrazhkina E.A., Skvortsova V.I., Ling S.C., Da Cruz S., Parone P.A., Buchman V.L., Ninkina N.N. Fused in sarcoma (FUS) protein lacking nuclear localization signal (NLS) and major RNA binding motifs triggers proteinopathy and severe motor phenotype in transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(35): 25266-26274. DOI: 10.1074/jbc.M113.492017
14. Дейкин А.В., Ковражкина Е.А., Овчинников Р.К., Броневицкий Е.В., Разинская О.Д., Смирнов А.П., Ермолкевич Т.Г., Еляков А.Б., Попов А.Н., Федоров Е.Н., Лыткина О.А., Кухарский М.С., Тарасова Т.В., Шелковникова Т.А., Устюгов А.А., Нинкина Н.Н., Гольдман И.Л., Садчикова Е.Р., Бачурин С.О., Скворцова В.И. Модель бокового амиотрофического склероза на основе линии трансгенных мышей, экспрессирующих мутантную форму FUS белка человека. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С.Корсакова*. 2014; 114(8): 63-70.
15. Deacon R. Assessing Burrowing, Nest Construction, and Hoarding in Mice. *J. Vis. Exp.* 2012; 59: e2607. DOI: 10.3791/2607
16. Malatynska E., Steinbusch H.W.M., Redkozubova O., Bolkunov A., Kubatiev A., Yeritsyan N.B., Vignisse J., Bachurin S., Strekalova T. Author's personal copy Anhedonic-like traits and lack of

- affective deficits in 18-month-old C57BL/6 mice: Implications for modeling elderly depression. *Exp. Gerontol.* 2012; 47(8): 552-564. DOI: 10.1016/j.exger.2012.04.010
17. Редкозубова О.М., Болкунов А.В., Ванькин Г.И., Ревизищ А.В., Еритсян Н.Б., Маркова Н.А., Бачурин С.О., Стрекалова Т.В. Поведенческие признаки ангедонии и отсутствие поведения «отчаяния» на модели старческой депрессии у 18-месячных мышей C57BL/6. *Патогенез.* 2013; 11(1): 63-68.
 18. Броновицкий Е.В., Дейкин А.В., Ермошкевич Т.Г., Еляков А.Б., Фёдоров Е.Н., Садчикова Е.Р., Гольдман И.Л., Овчинников Р.К., Роман А.Ю., Хританкова И.В., Кухарский М.С., Бухман В.Л., Бачурин С.О., Устюгов А.А. Подавление гамма-карболином нейродегенеративного процесса в трансгенной модели бокового амиотрофического склероза. *Доклады Академии Наук* 2015; 462(5): 609-612. DOI: 10.7868/S0869565215170259
 19. Мальцев А.В., Дейкин А.В., Овчинников Р.К., Чичева М.М., Ковражкина Е.А., Разинская О.Д., Броновицкий Е.В., Бudevich А.И., Кирикович Ю.К., Бачурин С.О., Устюгов А.А., Скворцова В.И. Отсроченный дебют симптоматической стадии FUS-протеинопатии под действием препарата димебон в эксперименте. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С.Корсакова.* 2017; 117(4): 68-71. DOI: 10.17116/jnevro20171174164-67
 20. Boeynaems S., Bogaert E., Van Damme P., Van Den Bosch L. Inside out: the role of nucleocytoplasmic transport in ALS and FTLN. *Acta Neuropathol.* 2016; 132(2): 159-173. DOI: 10.1007/s00401-016-1586-5

References

1. Gruden M.A., Davydova T.V., Voskresenskaya N.I., Elistratova E.I., Vetrile L.A., Fomina V.G., Morozova-Roche L.A., Sherstnev B.V., Sewell R.D.E. [Neuroimmune markers of cognitive deficit in Alzheimer disease]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2015; 13(3): 18-22. (in Russian)
2. Shelkovich TA, Kulikova AA, Tsvetkov FO, Peters O, Bachurin SO, Bukhman VL, Ninkina NN. [Proteinopathies-forms of neurodegenerative disorders with protein aggregation-based pathology]. *Molekularnaya Biologia [Molecular Biology].* 2012; 46(3): 402-415. (in Russian)
3. Golde T.E., Borchelt D.R., Giasson B.I., Lewis J. Thinking laterally about neurodegenerative proteinopathies. *J. Clin. Invest.* 2013; 123(5): 1847-1855. DOI: 10.1172/JCI66029
4. Bourke S.C., Tomlinson M., Williams T.L., Bullock R.E., Shaw P.J., Gibson G.J. Effects of non-invasive ventilation on survival and quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* 2006; 5(2): 140-147. DOI:10.1016/S1474-4422(05)70326-4
5. Vajda A., McLaughlin R.L., Heverin M., Thorpe O., Abrahams S., Al-Chalabi A., Hardiman O. Genetic testing in ALS: A survey of current practices. *Neurology.* 2017; 88(10): 991-999. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003686
6. Bräuer S., Zimyanin V., Hermann A. Prion-like properties of disease-relevant proteins in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neural Transm. (Vienna).* 2018; 125(4): 591-613. DOI: 10.1007/s00702-018-1851-y
7. Efimova A.D., Ovchinnikov R.K., Roman A.Y., Maltsev A.V., Grigoriev V.V., Kovrazhkina E.A., Skvortsova V.I. [The FUS protein: Physiological functions and a role in amyotrophic lateral sclerosis]. *Molekularnaya Biologia [Molecular Biology].* 2017; 51(3): 341-351. DOI: 10.7868/S0026898417020094 (in Russian)
8. Ratnavalli E., Brayne C., Dawson K., Hodges J.R. The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology.* 2002; 58(11): 1615-1621.
9. Van Langenhove T., van der Zee J., Van Broeckhoven C. The molecular basis of the frontotemporal lobar degeneration-amyotrophic lateral sclerosis spectrum. *Ann. Med.* 2012; 44(8): 817-828. DOI: 10.3109/07853890.2012.665471
10. Ling S.C., Polymenidou M., Cleveland D.W. Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron.* 2013; 79(3): 416-438. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.07.033
11. Yakhno N.N., Golovkova M.S., Preobrazhenskaya I.S., Zakharov V.V. [ALS syndrome dementia of the frontal type]. *Neurologicheskii zhurnal. [Neurological journal].* 2002; 7(4): 12-17. (in Russian)
12. Kukharsky M.S., Khritankova I.V., Lytkina O.A., Ovchinnikov R.K., Ustyugov A.A., Sheikovnikova T.A., Bronovitsky E.V., Kokhan V.S., Ninkina N.N., Bachurin S.O. [Development of the TDP43-proteinopathy cell model to search approaches to pathogenic therapy of the Frontotemporal Lobar Degeneration]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2013; 11(1): 52-59. (in Russian)
13. Shelkovich T.A., Peters O.M., Deykin A.V., Connor-Robson N., Robinson H., Ustyugov A.A., Bachurin S.O., Ermolkevich T.G., Goldman I.L., Sadchikova E.R., Kovrazhkina E.A., Skvortsova V.I., Ling S.C., Da Cruz S., Parone P.A., Buchman V.L., Ninkina N.N. Fused in sarcoma (FUS) protein lacking nuclear localization signal (NLS) and major RNA binding motifs triggers proteinopathy and severe motor phenotype in transgenic mice. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(35): 25266-26274. DOI: 10.1074/jbc.M113.492017
14. Deikin A.V., Kovrazhkina E.A., Ovchinnikov R.K., Bronovitsky E.V., Razinskaya O.D., Smirnov A.P., Ermolkevich T.G., Eliakov A.B., Popov A.N., Fedorov E.N., Lytkina O.A., Kukharsky M.S., Tarasova T.V., Shelkovich T.A., Ustyugov A.A., Ninkina N.N., Gol'dman I.L., Sadchikova E.R., Bachurin S.O., Skvortsova V.I. [A mice model of amyotrophic lateral sclerosis expressing mutant human FUS protein]. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S.Korsakova [S.S.Korsakov Journal of neurology and psychiatry].* 2014; 114(8): 62-69. (in Russian)
15. Deacon R. Assessing Burrowing, Nest Construction, and Hoarding in Mice. *J. Vis. Exp.* 2012; 59: e2607. DOI: 10.3791/2607
16. Malatynska E., Steinbusch H.W.M., Redkozubova O., Bolkunov A., Kubatiev A., Yeritsyan N.B., Vignisse J., Bachurin S., Strekalova T. Author's personal copy Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old C57BL/6 mice: Implications for modeling elderly depression. *Exp. Gerontol.* 2012; 47(8): 552-564. DOI: 10.1016/j.exger.2012.04.010
17. Redkozubova O.M., Bolkunov A.V., Vankin G.I., Revischin A.V., Yeritsyan N.B., Markova N.A., Bachurin S.O., Strekalova T.V. [Occurrence of hedonic and lack of affective deficit in 18-month-old C57BL/6 mice implications for modeling elderly depression]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2013; 11(1): 64-69. (in Russian)
18. Bronovitsky E.V., Ovchinnikov R.K., Roman A.Y., Khritankova I.V., Kukharsky M.S., Buchman V.L., Bachurin S.O., Ustyugov A.A., Deikin A.V., Ermolkevich T.G., Elyakov A.B., Fedorov E.N., Sadchikova E.R., Goldman I.L. [Gamma-carboline inhibits neurodegenerative processes in a transgenic model of amyotrophic lateral sclerosis]. *Doklady biohimii i biofiziki [Reports of Biochemistry and Biophysics].* 2015; 462(1): 189-192. DOI: 10.1134/S1607672915030138 (in Russian)
19. Maltsev A.V., Deykin A.V., Ovchinnikov R.K., Chicheva M.M., Kovrazhkina E.A., Razinskaya O.D., Bronovitsky E.V., Budevich A.I., Kirikovich Y.K., Bachurin S.O., Ustyugov A.A., Skvortsova V.I. [Dimebon delays the onset of symptoms of FUS-proteinopathy in transgenic mice]. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S.Korsakova. [S.S.Korsakov Journal of neurology and psychiatry].* 2017; 117(4): 64-67. DOI: 10.17116/jnevro20171174164-67 (in Russian)
20. Boeynaems S., Bogaert E., Van Damme P., Van Den Bosch L. Inside out: the role of nucleocytoplasmic transport in ALS and FTLN. *Acta Neuropathol.* 2016; 132(2): 159-173. DOI: 10.1007/s00401-016-1586-5

Сведения об авторах

Лыскова Екатерина Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Чапров Кирилл Дмитриевич – аспирант лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Иванова Тамара Александровна – научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Устюгов Алексей Анатольевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Овчинников Руслан Константинович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Кухарский Михаил Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Коршунов Евгений Николаевич – младший научный сотрудник центра коллективного пользования Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена»

Дейкин Алексей Васильевич – кандидат биологических наук, заместитель руководителя центра коллективного пользования Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биологии гена» Российской академии наук; ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Бачурин Сергей Олегович – доктор химических наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель лаборатории биомолекулярного скрининга Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

Нинкина Наталья Николаевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией генетического моделирования нейродегенеративных процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт физиологически активных веществ» Российской академии наук

УДК: 612.826.4. 612.822.81. 616.8-092

Функциональные изменения цикла «сон-бодрствование» после черепно-мозговой травмы в эксперименте

Гаврилов Ю.В.¹, Деревцова К.З.¹, Корнева Е.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины». 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский Государственный Университет». 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9

Актуальность. Хроническое нарушение цикла «сон-бодрствование» является частым последствием черепно-мозговой травмы (ЧМТ), однако патогенез этого явления неизвестен. Недоступность прижизненного гистологического анализа пораженных структур головного мозга, полиморфность повреждений при ЧМТ создают определенные трудности для систематического изучения посттравматических нарушений. Большая часть современных исследований сфокусирована на острых изменениях активности клеток мозга после ЧМТ. Проблема изучения отдаленных последствий после перенесенной ЧМТ остается не менее актуальной. Характерные для посттравматического периода нарушения сна существенно влияют на когнитивную активность и вызывают вторичные функциональные изменения, приводящие к последующему снижению трудоспособности и качества жизни людей, перенесших травму.

Целью исследования стало изучение нарушений цикла «сон-бодрствование» в течение нескольких недель после ЧМТ у крыс по результатам анализа электроэнцефалограмм.

Методы. Для объективной оценки нарушений сна использовали полисомнографию. Проанализированы данные электрофизиологических изменений через 1, 7 и 28 дней после травмы.

Результаты. Обнаружено отставленное (через 28 дней) влияние ЧМТ на показатели цикла «сон-бодрствование»: повышение продолжительности сна за счёт возрастания длительности периодов сна в темное время суток в часы активного бодрствования крыс, с соответствующим снижением индекса фрагментации сна.

Заключение. Выявленный характер нарушений сна после ЧМТ позволяет приблизиться к пониманию адекватных способов терапии, направленной на нормализацию цикла сон-бодрствование, что поможет снизить развитие посттравматической астении.

Ключевые слова: цикл «сон-бодрствование»; черепно-мозговая травма; полисомнография; электроэнцефалография.

Для цитирования: Гаврилов Ю.В., Деревцова К.З., Корнева Е.А. Функциональные изменения цикла «сон-бодрствование» после черепно-мозговой травмы в эксперименте. Патогенез. 2019; 17(1): 50-56

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.50-56

Для корреспонденции: Деревцова Кристина Зурабовна, e-mail: derevtcova19@ya.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы выражают глубочайшую признательность специалистам Отделения неврологии и травматологии больницы Университета Цюриха и Отделения неврологии в Inselspital Bern (Швейцария) за предоставленную возможность выполнения части работы на базе этих учреждений и за оказанную помощь в проведении исследований.

Поступила: 24.07.2018

Functional changes in the sleep-wake cycle after experimental traumatic brain injury

Gavrilov Yu.V.¹, Derevtsova K.Z.¹, Korneva E.A.^{1,2}

¹ Institute of Experimental Medicine, Akademika Pavlova Str. 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation

² St. Petersburg State University, Universitetskaya Naberezhnaya 7-9, St. Petersburg 199034, Russian Federation

Background. Chronic disturbance of the sleep-wake cycle is a frequent consequence of traumatic brain injury (TBI) with an unknown pathogenesis. Unavailability of intravital histological analysis of affected brain structures and the polymorphism of TBI complicate systematic study of posttraumatic disorders. Most of current research focuses on acute changes in brain cell activity following TBI. The issue of long-term TBI consequences is still relevant. Sleep disorders typical for the post-traumatic period considerably affect the cognitive function and cause secondary functional changes that lead to impaired working ability. In addition, TBI decreases the patients' quality of life. Thus, **the aim of the study** was to evaluate disorders of the sleep-wake cycle during several weeks after TBI in rats using electroencephalographic analysis.

Methods. The polysomnography study detected electrophysiological changes at 1, 7, and 28 days after trauma.

Results. A delayed (28 days) impact of TBI on indexes of the sleep-wake cycle included an increased sleep duration due to longer sleep periods in the dark time of day, during the hours of rat active waking with a corresponding decrease in the sleep fragmentation index.

Conclusion. The identified nature of post-TBI sleep disorders provides better understanding of adequate therapy aimed at normalizing the sleep-wake cycle, which will help reduce the development of post-traumatic asthenia.

Key words: sleep-wake cycle; traumatic brain injury; polysomnography; electroencephalography.

For citation: Gavrilov Yu.V., Derevtsova K.Z., Korneva E.A. [Functional changes in the sleep-wake cycle after experimental traumatic brain injury]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 50-56 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.50-56

For correspondence: Derevtsova Kristina Zurabovna, e-mail: derevtsova19@ya.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The authors express their deepest appreciation to the specialists of the Department of Neurology and Traumatology (University of Zurich Hospital), and the Department of Neurology (Inselspital Bern), Switzerland, for the opportunity to perform part of the work on the basis of these institutions and for their assistance in conducting research.

Received: 24.07.2018

Введение

Изучение последствий черепно-мозговых травм (ЧМТ) является чрезвычайно важной задачей современной медицины. Существенную социальную значимость этой проблеме придает тот факт, что подобные травмы характерны для наиболее активной и важной в социальном и трудовом отношениях части населения — лиц до 50 лет. Большие экономические потери вследствие высокой смертности, инвалидизация пострадавших, временная утрата трудоспособности — все эти последствия определяют актуальность исследований в этой области. Благодаря развитию современных методов терапии при ЧМТ удастся избежать гибели или тяжелой инвалидизации пациентов. Однако актуальным остается устранение характерных неврологических симптомов и когнитивных нарушений, качественно ухудшающих жизнь пациентов [1—3]. Посттравматические нарушения цикла «сон-бодрствование» являются частой жалобой после перенесенной ЧМТ и нередко трудно поддаются коррекции [4, 5]. Среди наиболее распространенных симптомов нарушения сна и бодрствования при посттравматическом повреждении является чрезмерная дневная сонливость и увеличение продолжительности сна длительностью более суток [6—8]. В литературе хорошо отражены некоторые последствия ЧМТ, такие как изменение психоневрологического статуса, нарушение когнитивных функций и двигательных навыков после травмы [9—17]. Большинство этих исследований затрагивает нарушение регуляции цикла «сон-бодрствование» только в течение первых нескольких дней после ЧМТ [13, 14]. У человека посттравматические нарушения цикла «сон-бодрствование» могут наблюдаться в течение многих лет после травмы [18, 19]. Rowe с соавт. проанализировали цикл «сон-бодрствование» у мышей в течение 5 недель после ЧМТ [16], однако электрофизиологических данных об особенностях этих изменений не было представлено. Таким образом, целью этого исследования явилось изучение электрофизиологических параметров, отражающих изменения цикла сон-бодрствование после ЧМТ у крыс с помощью полисомнографии в течение 4 недель после травмы.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 13 взрослых крыс самцов Sprague-Dawley (Харлан Laboratories Inc, NL) весом 230—270 г. После вживления электродов для прове-

дения электроэнцефалографии/электромиографии (ЭЭГ/ЭМГ) животные содержались в одиночных клетках со свободным доступом к воде и пище при 12-часовом световом режиме, который начинался с 8:00 или 9:00 утра, в зависимости от сезона. Температура в помещении поддерживалась на уровне 21—23°C.

Все эксперименты были проводились в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» от 1.04.2016 № 199н и были одобрены ветеринарной службой Цюриха. Все хирургические процедуры выполнены под глубоким наркозом с помощью системы анестезии лабораторных животных (испаритель «VIP 3000 Veterinary Vaporizer Matr») с использованием кислородсодержащей смеси с изофлураном (4,5% для введения в наркоз, 2,5% для поддержания). Изофлуран вводили, помещая крыс в индукционную камеру с изофлурановой смесью со скоростью потока 0,5 л/мин. Впоследствии животным вводили 0,05 мг/кг бупренорфина для обезболивания. Мониторинг веса и процесса заживления ран проводили ежедневно в течение первой недели и далее еженедельно.

Вживление электродов для записи ЭЭГ/ЭМГ. Для регистрации данных животным вживляли электроды, незначительно изменив протокол, приведенный в статье Baumann C.R. et al. [20]. Позолоченные миниатюрные винты, служившие в качестве электродов для записи данных ЭЭГ, билатерально вставляли в череп без прохождения сквозь твердую мозговую оболочку: 1 пара электродов — 2 мм сбоку от сагитального шва и 3 мм кзади от брегмы, и 1 пара — 6 мм кзади от брегмы и 2 мм латеральнее срединной линии.

Область фронтальной коры оставляли нетронутой для воспроизведения экспериментальной модели ЧМТ. Для мониторинга мышечного тонуса пара позолоченных электродов была имплантирована в мышцу шеи крыс. Электроды прикрепляли к черепу с помощью стоматологического цемента и присоединяли проводами из нержавеющей стали к головному разъему (производство «Farnell AG», Switzerland). Через 8—10 дней после операции по вживлению электродов проводили моделирование ЧМТ.

Модель черепно-мозговой травмы. Представленная модель ЧМТ была описана ранее [21]. Крысам (n = 7) под глубокой анестезией (бупренорфин в дозе 0,05 мг/кг) проводили разрез кожи головы длиной 0,5-0,7 см и обнажали кость в префронтальной области черепа

ростральнее брегмы, не затрагивая зону с имплантированными электродами. Для нанесения ЧМТ на свободную от кожи область черепа под углом 70° опустили металлический стержень весом 2,5 кг, длиной 25 см (рис. 1). Повреждающая поверхность стержня была покрыта силиконовым наконечником для предотвращения перелома костей. После нанесения повреждения, кожу зашивали и дезинфицировали, животных возвращали в клетки, где они находились под непрерывным наблюдением до стабилизации состояния.

Животным группы контроля (ложно-оперированные животные, $n = 6$) проводили разрез кожи без нанесения травмы. Аналогично животным с нанесенной травмой, кожу ложно-оперированных крыс зашивали и обрабатывали дезинфицирующими средствами. Затем животные помещались в одиночные клетки под наблюдение на весь опытный период.

Регистрация данных ЭЭГ/ЭМГ и интерпретация данных. Запись данных ЭЭГ/ЭМГ проводили за один день до нанесения травмы (для регистрации базовой активности), а также через 1, 7 и 28 дней после травмы. Регистрацию данных у животных контрольной (ЛО) и опытной группы (ЧМТ) проводили одновременно. Длительность каждой записи составляла 24 часа. Для анализа данных 24-часовой период разделяли на 12 часовой светлый и темный периоды. На основе выявленных паттернов ЭЭГ/ЭМГ, выделяли три фазы: фаза бодрствования, фаза медленного сна и фаза быстрого сна. В каждом 12-часовом периоде оценивали представленность каждого состояния отдельно. Для определения устойчивости цикла «сон-бодрство-

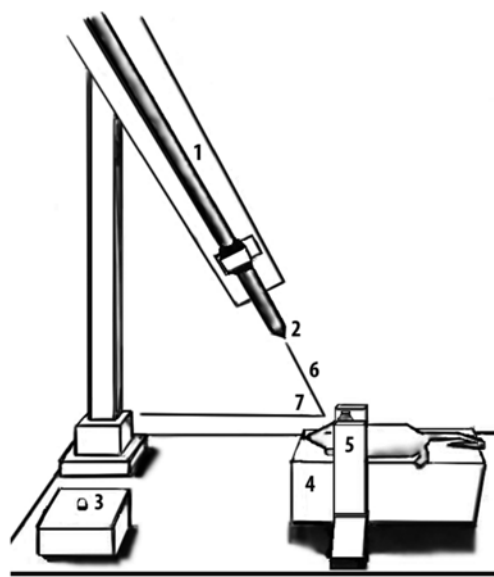


Рис. 1. Устройство для нанесения травмы в эксперименте. Экспериментальная модель черепно-мозговой травмы [21]. Обозначения: 1 — алюминиевый или стальной стержень (весом 2,5 кг); 2—5 мм силиконовый наконечник; 3 — электронный переключатель магнитного держателя стержня; 4 — площадка из поролона для ускорения или замедления удара (10 см); 5 — устройство, обеспечивающее боковую фиксацию головы; 6 — высота падающего стержня (25 см); 7 — угол падения стержня (70°).

вание» рассчитывали индекс фрагментации сна, где число эпизодов смены активности делили на общую длительность одной фазы цикла «сон-бодрствование»; также учитывали среднюю продолжительность каждой фазы до и после травмы. Для определения глубины сна также определяли представленность дельта-сна (1—4 Гц) у животных обеих групп (ЧМТ и ЛО).

Статистический анализ. Для статистической обработки использовали ANOVA, с *post hoc* сравнением средних по критерию Фишера. Все столбцы на графиках представляют средние значения, а планки погрешностей показывают стандартную ошибку среднего. Проведенный анализ обеспечивает достоверность установленных изменений на уровне 90—95%.

Результаты исследования

Последствия ЧМТ оценивали методом регистрации ЭЭГ/ЭМГ, анализируя изменения циклов «сон-бодрствование» в течение первых суток после полученной травмы и далее спустя 7 и 28 суток. Проведенный ранее анализ цикла «сон-бодрствование» в течение светового периода (фазы покоя у крыс) не выявил существенных различий между показателями у животных контрольной и экспериментальной групп [21].

В данной работе у животных с ЧМТ констатировано выраженное увеличение длительности периодов медленного сна и сокращение периодов бодрствования в темном периоде спустя 28 дней после травмы (рис. 2). Длительность фаз быстрого сна была одинаковой у животных обеих групп. На остальных проанализированных сроках подобных изменений цикла «сон-бодрствование» не выявлено (рис. 2).

Детальный анализ данных полисомнографии в течение 24 часов проводили на 28-е сутки с 2-часовым интервалом. Выявлено, что ультрадианный ритм цикла «сон-бодрствование» оставался сохранным с преобладанием периодов активности в темное время суток (рис. 3). Таким образом, установлено, что посттравматическое нарушение функций структур мозга, участвующих в регуляции цикла «сон-бодрствование», выразилось главным образом в увеличении длительности периодов сна в темное время суток в часы активного бодрствования крыс.

Для определения степени выраженности нарушений после ЧМТ анализировали общую потребность во сне в течение суток у животных спустя 28 дней после полученной травмы. Учитывали продолжительность и качество обеих фаз сна (медленной и быстрой фаз сна) в темный и светлый периоды (рис. 4), и длительность периода бодрствования в течение 24 часов (рис. 5). Полученные показатели сравнивали с данными, характерными для этих животных до операции. Установлено увеличение продолжительности общего сна в темный период, в то время как в светлый период эти показатели не различались у животных контрольной и экспериментальной групп. Кроме того, обнаружено снижение периодов бодрствования и увеличение фазы медленного сна спустя 28 дней после полученной травмы; продолжительность фазы быстрого сна оставалась неизменной у животных обеих групп.

Далее был проанализирован уровень фрагментации фазы медленного сна, увеличившейся после ЧМТ в темный период суток через 28 дней после травмы. В ходе эксперимента было определено снижение индекса фрагментации сна в течение медленной фазы через 28 дней после травмы у животных после ЧМТ (рис. 6, А). Таким образом, течение медленного сна

после ЧМТ стало устойчивее и число пробуждений в этом периоде снизилось. Индекс фрагментации в течение других фаз цикла «сон-бодрствование» оставался без изменений. Длительность фаз дельта-сна кратковременно повышалась на 25% у животных через 7 дней после ЧМТ, однако на 28 суток этот эффект не воспроизводился.

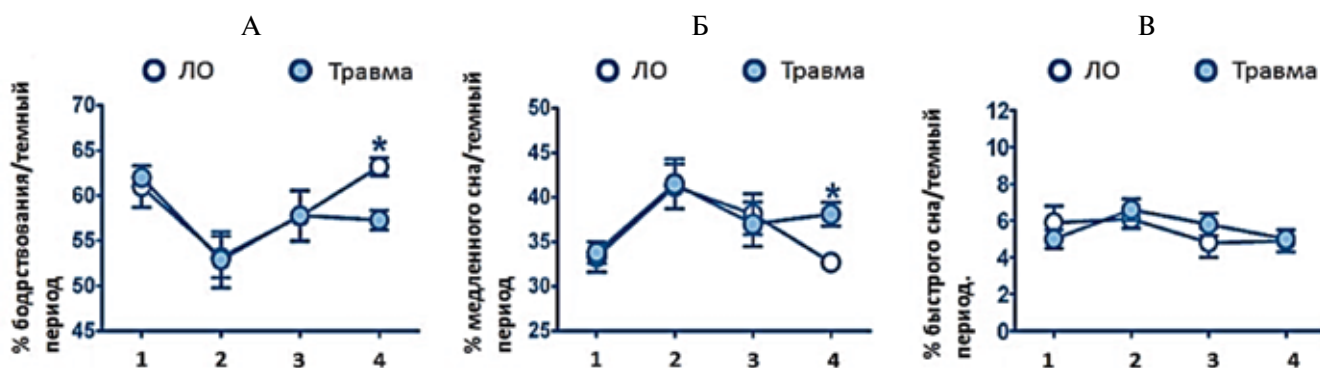


Рис. 2. Соотношение представленности стадий цикла «сон-бодрствование» в темном периоде у крыс спустя 1, 7, 28 дней после черепно-мозговой травмы. А – фаза бодрствования, Б – фаза медленного сна, В – фаза быстрого сна. Группы животных (здесь и на последующих рисунках): ЛО – ложно-оперированные животные (контроль), Травма – животные с ЧМТ. Цифрами обозначены дни регистрации данных: 1 – базовый уровень активности, 2 – уровень активности животного спустя 1 сутки, 3 – уровень активности животного спустя 7 суток, 4 – уровень активности животного спустя 28 суток. Статистически значимые различия между группами обозначены * ($p < 0,01$).

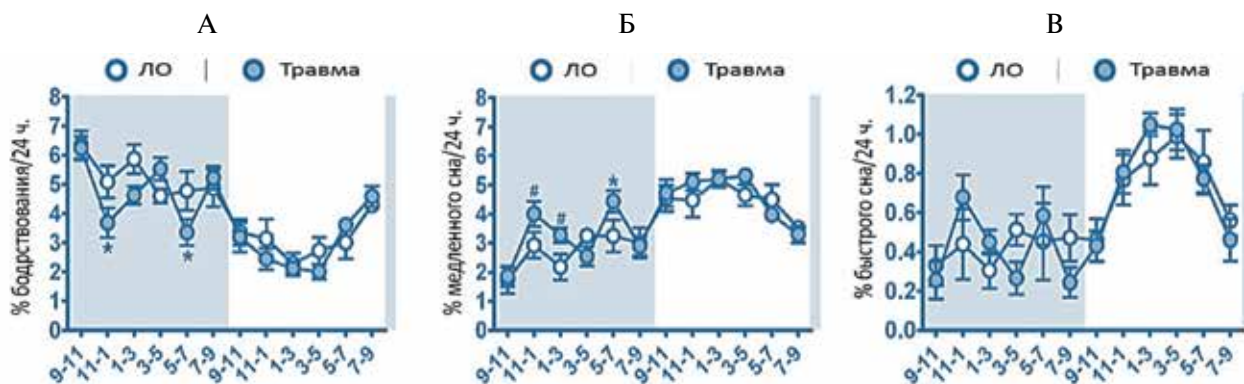


Рис. 3. Ультраниантный анализ представленности стадий цикла «сон-бодрствование» в темном (затемнено) и светлом периодах у крыс спустя 28 дней после черепно-мозговой травмы. А – фаза бодрствования, Б – фаза медленного сна, В – фаза быстрого сна. Уровни статистической значимости различий между группами: * – $p < 0,05$, # – $p < 0,06$.

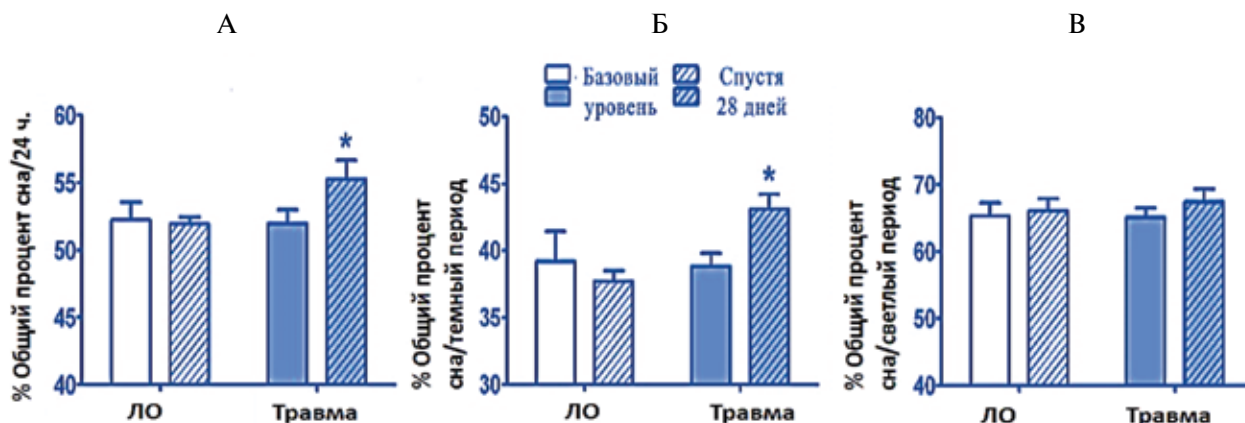


Рис. 4. Потребность во сне спустя 28 дней у крыс после черепно-мозговой травмы. А – доля сна в течение суток у животных обеих групп. Б – доля сна в течение темного периода суток; В – доля сна в течение светлого периода суток, базовый уровень был зарегистрирован до травмы. Уровни статистической значимости различий между группами: * – $p < 0,05$.

Обсуждение

В настоящем исследовании представлены данные, свидетельствующие о влиянии ЧМТ на регуляцию цикла «сон-бодрствование» у крыс. На экспериментальной модели ЧМТ проанализированы длительность и качество всех фаз сна и бодрствования. Установленное увеличение продолжительности медленной фазы сна через 28 дней после получения травмы и сокращение длительности бодрствования у этих животных согласуется с клиническими наблюдениями, описанными у людей после ЧМТ [22]. Парадоксальная фаза сна оставалась при этом без изменений. Подобные нарушения наблюдались ранее у пациентов с ЧМТ, в частности такие пациенты нуждались в дополнительном дневном сне длительностью не менее 1 часа, более 6 месяцев после получения травмы [22]. Ранние исследования также указывали на чрезмерную суточную потребность во сне у пациентов с ЧМТ [18]. Следует подчеркнуть, что изменения, выявленные после ЧМТ, проявлялись главным образом увеличением продолжительности медленной фазы сна, делая

ее более стабильной и устойчивой. Эти данные подтверждаются и результатами наблюдения в клинике. Увеличение продолжительности медленной фазы сна фиксировали у пациентов с ЧМТ человека в течение 6 месяцев после получения травмы [22]. Эти результаты свидетельствуют о том, что выбранная экспериментальная модель ЧМТ хорошо воспроизводит посттравматические эффекты, характерные для пациентов, получивших подобную травму.

Установлено, что устойчивая чрезмерная сонливость у животных развивается только через 28 дней после травмы – и не ранее. Это может быть объяснено двумя причинами. Во-первых, в течение первых дней после ЧМТ для животных характерно развертывание острой реакции на стресс и, соответственно, более высокий уровень тревожности, что влияет на изменение цикла «сон-бодрствование». Во-вторых, отсроченные изменения могут быть связаны с постепенным развитием стойких и долговременных изменений функций мозга, вызванных возможным посттравматическим повреждением популяций нейронов, участвующих в регуляции цикла «сон-бодр-

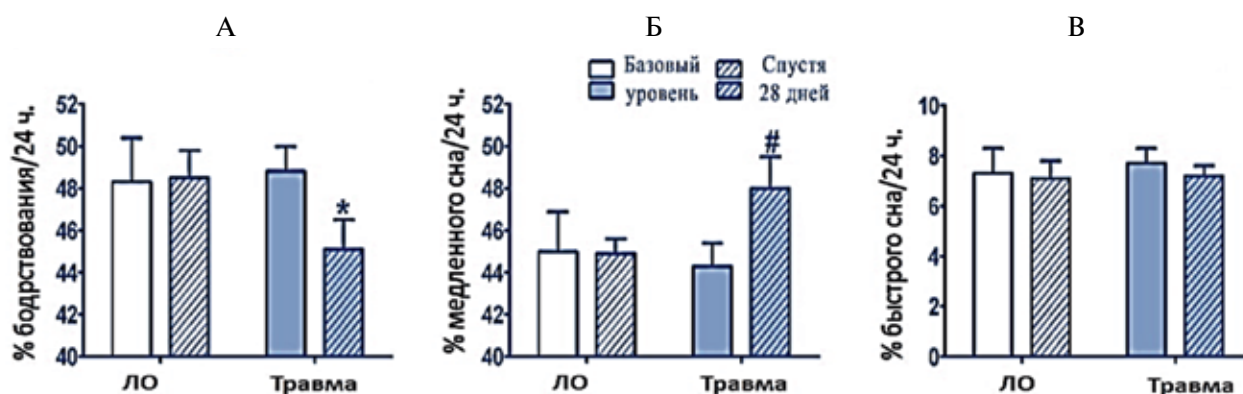


Рис. 5. Доля отдельных фаз цикла «сон-бодрствование» в течение суток у животных обеих групп спустя 28 дней после черепно-мозговой травмы. А – доля стадии бодрствования в течение суток; Б – доля фазы медленного сна в течение суток; В – доля фазы быстрого сна в течение суток. Уровни статистической значимости различий между группами: * – $p < 0,05$, # – $p < 0,06$.

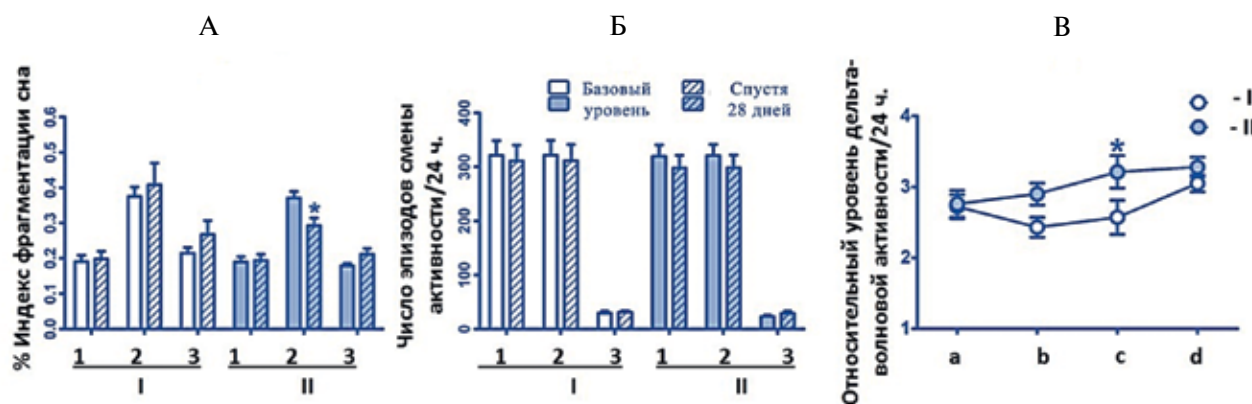


Рис. 6. Характеристика фрагментации и глубины сна у крыс после травмы. А – Индекс фрагментации сна в течение суток; Б – число эпизодов смены уровня активности у животных в течение всех фаз цикла «сон-бодрствование» в течение суток; 1 – фаза бодрствования, 2 – фаза медленного сна, 3 – фаза быстрого сна; В – относительный уровень периодов сна с дельта-волновой активностью. Английскими строчными буквами обозначены дни регистрации данных: а – базовый уровень активности, б – уровень активности животного спустя 1 сутки, с – уровень активности животного спустя 7 суток, d – уровень активности животного спустя 28 суток. (I) – ложно-оперированные животные (контроль), (II) – животные с черепно-мозговой травмой. Статистически значимые различия между группами обозначены * ($p < 0,05$).

ствование». Известны и хорошо описаны долгосрочные, так называемые, вторичные нарушения после травмы, что позволяет рассматривать ЧМТ не просто как однократный повреждающий фактор, а как комплекс патологических изменений, происходящих в течение длительного периода после травмы [23–25].

Заключение

Выявленный характер нарушений сна после ЧМТ позволяет приблизиться к пониманию адекватных способов терапии, направленной на нормализацию цикла сон-бодрствование, что поможет снизить развитие посттравматической астении.

Список литературы/References

1. McInnes K, Friesen C.L., MacKenzie D.E., Westwood D.A., Boe S.G. Mild Traumatic Brain Injury (mTBI) and chronic cognitive impairment: A scoping review. *PLoS One*. 2017; 12(4): e0174847. DOI: 10.1371/journal.pone.0174847
2. Maegele M., Engel D., Bouillon B., Lefering R., Fach H., Raum M., Buchheister B., Schaefer U., Klug N., Neugebauer E. Incidence and outcome of traumatic brain injury in an urban area in Western Europe over 10 years. *Eur. Surg. Res.* 2007; 39(6): 372–379. DOI: 10.1159/000107097
3. Stout D.M., Buchsbaum M.S., Spadoni A.D., Risbrough V.B., Strigo I.A., Matthews S.C., Simmons A.N. Multimodal canonical correlation reveals converging neural circuitry across trauma-related disorders of affect and cognition. *Neurobiol. Stress*. 2018; 9: 241–250. DOI:10.1016/j.ynstr.2018.09.006
4. Sandsmark D.K., Elliott J.E., Lim M.M. Sleep-Wake Disturbances After Traumatic Brain Injury: Synthesis of Human and Animal Studies. *Sleep*. 2017; 40(5). DOI: 10.1093/sleep/zsx044
5. Cohen M., Oksenberg A., Snir D., Stern M.J., Groswasser Z. Temporally related changes of sleep complaints in traumatic brain injured patients. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1992; 55(4): 313–315.
6. Barshikar S., Bell K.R. Sleep Disturbance After TBI. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2017; 17(11): 87. DOI: 10.1007/s11910-017-0792-4
7. Castriotta R.J., Wilde M.C., Lai J.M., Atanasov S., Masel B.E., Kuna S.T. Prevalence and consequences of sleep disorders in traumatic brain injury. *J. Clin. Sleep Med.* 2007; 3(4): 349–356.
8. Ouellet M.C., Beaulieu-Bonneau S., Morin C.M. Sleep-wake disturbances after traumatic brain injury. *Lancet Neurol.* 2015; 14(7): 746–757. DOI:10.1016/S1474-4422(15)00068-X
9. Gorman L.K., Shook B.L., Becker D.P. Traumatic brain injury produces impairments in long-term and recent memory. *Brain Res.* 1993; 614(1–2): 29–36.
10. Abdel Baki S.G., Kao H.Y., Kelemen E., Fenton A.A., Bergold P.J. A hierarchy of neurobehavioral tasks discriminates between mild and moderate brain injury in rats. *Brain Res.* 2009; 1280: 98–106. DOI: 10.1016/j.brainres.2009.05.034
11. Pandey D.K., Yadav S.K., Mahesh R., Rajkumar R. Depression-like and anxiety-like behavioural aftermaths of impact accelerated traumatic brain injury in rats: a model of comorbid depression and anxiety? *Behav. Brain Res.* 2009; 205(2): 436–442. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.07.027
12. Chen Y., Constantini S., Trembovler V., Weinstock M., Shohami E. An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits. *J. Neurotrauma*. 1996; 13(10): 557–568. DOI: 10.1089/neu.1996.13.557
13. Willie J.T., Lim M.M., Bennett R.E., Azarion A.A., Schwetye K.E., Brody D.L. Controlled cortical impact traumatic brain injury acutely disrupts wakefulness and extracellular orexin dynamics as determined by intracerebral microdialysis in mice. *J. Neurotrauma*. 2012; 29(10): 1908–1921. DOI: 10.1089/neu.2012.2404
14. Lim M.M., Elkind J., Xiong G., Galante R., Zhu J., Zhang L., Lian J., Rodin J., Kuzma N.N., Pack A.I., Cohen A.S. Dietary therapy mitigates persistent wake deficits caused by mild traumatic brain injury. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5(215): 215ra173. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007092
15. Petraglia A.L., Plog B.A., Dayawansa S., Chen M., Dashnaw M.L., Czerniecka K., Walker C.T., Viterise T., Hyrien O., Iliff J.J., Deane R., Nedergaard M., Huang J.H. The Spectrum of Neurobehavioral Sequelae after Repetitive Mild Traumatic Brain Injury: A Novel Mouse Model of Chronic Traumatic Encephalopathy. *J. Neurotrauma*. 2014; 31(13): 1211–1224. DOI: 10.1089/neu.2013.3255
16. Rowe R.K., Harrison J.L., O'Hara B.F., Lifshitz J. Diffuse brain injury does not affect chronic sleep patterns in the mouse. *Brain Inj.* 2014; 28(4): 504–510. DOI: 10.3109/02699052.2014.888768
17. Rowe R.K., Striz M., Bachstetter A.D., Van Eldik L.J., Donohue K.D., O'Hara B.F., Lifshitz J. Diffuse brain injury induces acute post-traumatic sleep. *PLoS One*. 2014; 9(1): e82507. DOI: 10.1371/journal.pone.0082507
18. Baumann C.R., Werth E., Stocker R., Ludwig S., Bassetti C.L. Sleep-wake disturbances 6 months after traumatic brain injury: a prospective study. *Brain*. 2007; 130(Pt 7): 1873–1883. DOI: 10.1093/brain/awm109
19. Kempf J., Werth E., Kaiser P.R., Bassetti C.L., Baumann C.R. Sleep-wake disturbances 3 years after traumatic brain injury. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2010; 81(12): 1402–1405. DOI: 10.1136/jnnp.2009.201913
20. Baumann C.R., Kilic E., Petit B., Werth E., Hermann D.M., Tafti M., Bassetti C.L. Sleep EEG changes after middle cerebral artery infarcts in mice: different effects of striatal and cortical lesions. *Sleep*. 2006; 29(10): 1339–1344.
21. Büchele F., Morawska M.M., Schreglmann S.R., Penner M., Musser M., Baumann C.R., Noain D. Novel Rat Model of Weight Drop-Induced Closed Diffuse Traumatic Brain Injury Compatible with Electrophysiological Recordings of Vigilance States. *J. Neurotrauma*. 2016; 33(13): 1171–1180. DOI: 10.1089/neu.2015.4001
22. Imbach L.L., Valko P.O., Li T., Maric A., Symeonidou E.R., Stover J.F., Bassetti C.L., Mica L., Werth E., Baumann C.R. Increased sleep need and daytime sleepiness 6 months after traumatic brain injury: a prospective controlled clinical trial. *Brain*. 2015; 138(Pt 3): 726–735. DOI: 10.1093/brain/awu391.
23. Bramlett HM, Dietrich WD. Quantitative structural changes in white and gray matter 1 year following traumatic brain injury in rats. *Acta neuropathol.* 2002; 103(6): 607–614. DOI: 10.1007/s00401-001-0510-8
24. Inglese M., Makani S., Johnson G., Cohen B.A., Silver J.A., Gonen O., Grossman R.I. Diffuse axonal injury in mild traumatic brain injury: a diffusion tensor imaging study. *J. Neurosurg.* 2005; 103(2): 298–303. DOI: 10.3171/jns.2005.103.2.0298
25. Masel B.E., DeWitt D.S. Traumatic brain injury: a disease process, not an event. *J. Neurotrauma*. 2010; 27(8): 1529–1540. DOI: 10.1089/neu.2010.1358

Сведения об авторах:

Гаврилов Юрий Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

Дерезцова Кристина Зурабовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»

Корнева Елена Андреевна – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник отдела общей патологии и патологической физиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины»; профессор кафедры патофизиологии медицинского факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский Государственный Университет»

УДК 616-092

Нарушение распределения лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла при экспериментальном остром нарушении мозгового кровообращения различной степени тяжести

Кульчиков А.Е.¹, Морозов С.Г.¹, Мусин Р.С.², Гриненко Е.А.³¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации.

127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

³ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр

нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, д. 16

Актуальность. Нарушение работы иммунной системы при инсульте играет важную патогенетическую роль в течении данного заболевания и складывается в целом на системном уровне из депрессии неспецифического и клеточного звена иммунитета, активации гуморального иммунитета, развития аутоиммунных реакций и дисбаланса в системе цитокинов. Однако в литературе не представлены данные, посвященные изучению статуса активности иммунокомпетентных клеток в зависимости от степени тяжести острой цереброваскулярной патологии.

Цель исследования: изучение пролиферативной активности и распределения лимфоцитов по фазам клеточного цикла при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) различной степени тяжести.

Материалы и методы: в экспериментальном исследовании на животных (крысы линии Вистар, массой 200-220 г, n = 55) изучали пролиферативную активность и распределение T- и B-лимфоцитов селезенки по фазам митотического цикла при экспериментальном ОНМК в левом полушарии (область внутренней капсулы) легкой, средней и тяжелой степени. У животных также оценивали неврологический статус с помощью шкалы Stroke-index McGraw в модификации И.В. Ганнушкиной. Результаты: при оценке неврологического статуса на 3-и сутки от момента воспроизведения ОНМК выявлено, что тяжесть экспериментальной модели соответствует тяжести неврологического статуса животных. При моделировании ОНМК обнаружено изменение в распределении B-лимфоцитов по фазам клеточного цикла в виде снижения пролиферативной активности, на что указывает снижение пула клеток в группах ОНМК в фазе S, в которой происходит репликация ДНК (ОНМК легкой степени: 55,3% [52,7; 58,1]; ОНМК средней степени: 53,2% [50,9; 54,7]; ОНМК тяжелой степени: 46,2% [44,2; 50,0]), в фазе G2/M, в которой происходит деление клетки (ОНМК легкой степени: 1,1% [0,9; 1,3]; ОНМК средней степени: 0,8% [0,7; 1,1]; ОНМК тяжелой степени: 0,5% [0,5; 0,7]), и увеличение количества клеток в фазе G0/G1, в которой происходит синтез мРНК и белка (ОНМК легкой степени: 43,4% [40,8; 46,2]; ОНМК средней степени: 46,1% [44,4; 48,3]; ОНМК тяжелой степени: 53,3% [49,6; 55,4]), с достоверными отличиями от контроля. Указанные изменения нарастают с утяжелением модели ОНМК. Подобная тенденция отмечена в отношении T-лимфоцитов в группах ОНМК в виде снижения процента клеток в фазе S – в повышении пула клеток в фазах G0/G1, но при этом отмечается повышение количества лимфоцитов в фазах G2/M (ОНМК легкой степени: 2,9% [2,6; 3,2]; ОНМК средней степени: 3,8% [3,5; 4,1]; ОНМК тяжелой степени: 4,4% [4,1; 4,8]) с достоверными отличиями от контроля, что указывает на активное деление клеток. Данные изменения нарастают, при повышении степени тяжести ОНМК.

Заключение: острая цереброваскулярная патология приводит к нарушению распределения T- и B-лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла и снижению их пролиферативной активности с нарастанием данных изменений с утяжелением степени тяжести инсульта.

Ключевые слова: острое нарушение мозгового кровообращения; T-лимфоциты; B-лимфоциты; пролиферативная активность; фазы клеточного цикла.

Для цитирования: Кульчиков А.Е., Морозов С.Г., Мусин Р.С., Гриненко Е.А.. Нарушение распределения лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла при экспериментальном остром нарушении мозгового кровообращения различной степени тяжести. Патогенез. 2019; 17(1): 56-65

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.56-65

Для корреспонденции: Кульчиков Андрей Евгеньевич, e-mail: andrey.kulchikov@gmail.com

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.10.2018

Disordered distribution of spleen lymphocytes over phases of the cell cycle in experimental stroke of different severity

Kulchikov A.E.¹, Morozov S.G.¹, Musin R.S.², Grinenko E.A.³

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
Delegatskaya Str. 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

³ N.N. Burdenko Neurosurgery Institute,
4th Tverskaya-Yamskaya Str. 16, Moscow 125047, Russian Federation

Background. Impairment of the immune system in stroke plays an important pathogenic role in development of this disease and generally consists at the systemic level of depressed non-specific and cellular immunity, activated humoral immunity, autoimmune reactions, and imbalance of the cytokine system. However, information about the relationship between activity of immunocompetent cells and severity of acute cerebrovascular disease is unavailable. Aim: To study proliferative activity and distribution of lymphocytes over phases of the cell cycle in stroke of different severity.

Materials and methods: This experimental study was performed on Wistar rats weighing 200-220 g (n=55). Proliferative activity and distribution of spleen T and B lymphocytes in the mitotic cycle were studied in the left hemisphere (capsula interna) on experimental models of mild, moderate and severe stroke. Neurological status of animals was evaluated using the Stroke-index McGraw scale modified by I.V. Gannushkina. Results: Assessment of the neurological status on the 3rd day after the onset of experimental stroke showed that the severity of experimental model corresponded to the severity of neurological status. Stroke was associated with changes in the distribution of B-lymphocytes over the cell cycle phases. This was evident as a decrease in proliferative activity shown by decreased pools of cells in the S-phase, in which DNA replication occurs (mild stroke, 55.3% [52.7; 58.1]; moderate stroke, 53.2% [50.9; 54.7]; severe stroke, 46.2% [44.2; 50.0]) and in the G2/M-phase, in which mitosis occurs (mild stroke, 1.1% [0.9; 1.3]; moderate stroke, 0.8% [0.7; 1.1]; severe stroke, 0.5% [0.5; 0.7]); and by increased pool of cells in the G0/G1 phase, in which mRNA and protein are synthesized (mild stroke, 43.4% [40.8; 46.2]; moderate stroke, 46.1% [44.4; 48.3]; severe stroke, 53.3% [49.6; 55.4]). These differences were significant compared with the control group. These changes increased with severity of the stroke model. A similar tendency was noted for T-lymphocytes in stroke groups – a decreased proportion of cells in the S-phase and an increased cell pool in the G0/G1-phases. However, in the G2/M-phases, the number of lymphocytes was increased (mild stroke, 2.9% [2.6; 3.2]; moderate stroke, 3.8% [3.5; 4.1]; severe stroke, 4.4% [4.1; 4.8]) and significantly different from the control, which indicated active mitosis. These changes increased with the severity of stroke.

Conclusion: acute cerebrovascular pathology results in disordered distribution of splenic T and B lymphocytes over cell cycle phases and decreased lymphocyte proliferative activity; these changes increased with the severity of experimental stroke.

Keywords: stroke; T-lymphocytes; B-lymphocytes; proliferative activity; phases of the cell cycle.

For citation: Kulchikov A.E., Morozov S.G., Musin R.S., Grinenko E.A. Disordered distribution of spleen lymphocytes over phases of the cell cycle in experimental stroke of different severity. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 56-65 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.56-65

For correspondence: Kulchikov Andrey Evgenievich, e-mail: andrey.kulchikov@gmail.com

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 20.10.2018

Введение

Исследования последних лет показали, что нервная и иммунная системы тесно взаимосвязаны между собой и оказывают взаимное влияние друг на друга [1]. Стоит принимать во внимание важность нейроиммунных реакций при различных заболеваниях, особенно в условиях нарушения гематоэнцефалического барьера [2]. В последние годы накоплено множество данных по исследованию характера иммунных повреждений при остром нарушении мозгового кровообращения (ОНМК) [3–7]. Отмечено, что иммунная система играет важную роль в патогенезе инсульта, приводя в первую очередь к повреждению ЦНС за счет аутоиммунных реакций, а также к снижению иммунореактивности, и как следствие — развитие инфекционно-воспалительных осложнений (например, пневмонии) [8–14]. Последние, в свою очередь существенно отягощают течение ОНМК и часто являются причиной смерти [15]. В литературе представлены многочисленные данные, которые до-

вольно подробно раскрывают нарушения иммунореактивности при инсульте [3–14]. Данные нарушения складывается из аутоиммунной агрессии, дисбалансом в системе цитокинов, депрессий неспецифического и клеточного звена иммунитета, а также активацией гуморального иммунитета [8–10]. При этом остается нераскрытым вопрос о функциональных свойствах иммунокомпетентных клеток, в частности пролиферативной активности лимфоцитов и распределение их по фазам клеточного цикла. Также в литературе недостаточно данных о нарушении функциональной активности лимфоцитов при острой цереброваскулярной патологии различной степени тяжести, что является важным с точки зрения стратификации групп риска развития инфекционно-воспалительных осложнений. Раскрытие данных вопросов расширит понимание патогенеза ОНМК и может послужить базисом для разработки новых терапевтических подходов по введению больных с данным заболеванием. Целью данного исследования стало

изучение пролиферативной активности и распределение лимфоцитов по фазам клеточного цикла при ОНМК различной степени тяжести.

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено на 55 крысах линии Вистар (самцы, возраст 4 месяца, масса 200—220 г). В течение эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с существующими правилами и международными стандартами [15]. Исследование было выполнено в осеннее время года.

Моделирование левостороннего экспериментально-го ОНМК различной степени тяжести. У животных под наркозом (диэтиловый эфир, стадия III₃₋₄) была воспроизведена модель экспериментального левостороннего ОНМК (стереотаксические координаты внутренней капсулы слева: AP = 1,3 мм; ML = 2,5 мм; DV = 6 мм), с помощью 5-6 вращательных движений мандрена-ножа, введенного через направляющую иглу-канюлю [16]. В зависимости от степени тяжести моделируемого воздействия, животным дополнительно через мандрен в область разрушенной внутренней капсулы вводили аутокровь (средняя степень тяжести ОНМК), а при тяжелой форме ОНМК в дополнение к введенной крови, вращательными движениями мандрена, разрушали вышележащие структуры головного мозга с дополнительным введением аутокрови животного (от внутренней капсулы до коры головного мозга включительно) (табл. 1). Всем ложнооперированным животным под наркозом проводили скальпирование и трепанацию черепа слева.

Дизайн исследования. Перед началом эксперимента животные были разделены на пять групп, каждая из которых состояла из 11 животных: контроль – интактные животные (группа 1); ложнооперированные животные (ЛО) (группа 2); животные с ОНМК легкой степени (группа 3); животные с ОНМК средней степени тяжести (группа 4); животные с ОНМК тяжелой степени тяжести (группа 5). На 3-и сутки у всех групп животных оценивали неврологический статус для определения соответствия степени тяжести воспроизведенной модели ОНМК со степенью тяжести неврологического статуса, затем проводили эвтаназию под эфирным наркозом для оценки распределения лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла.

Оценка неврологического статуса у экспериментальных животных. Неврологический статус у животных пяти экспериментальных групп определяли с помощью шкалы Stroke-index McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной [17, 18]. С целью адаптации животных, за 3 дня до начала эксперимента всем животным проводили оценку неврологического статуса по данной шкале. Значение индекса данной шкалы суммировали для каждого экспериментального животного.

Морфологический контроль очага инсульта. Для проведения морфологического контроля повреждения мозга через сутки после моделирования ОНМК из каждой группы выбирали по одному животному, у

которого проводили гистологические исследования. Контроль топологии очага внутримозговой гематомы производили по фронтальным срезам мозга. Мозг крыс фиксировали в 10%-м растворе формалина, подвергали стандартной гистологической проводке, выполняли срезы на микротоме «Historange» (LKB) толщиной 6 мкм с шагом 200 мкм, после чего срезы окрашивали по методу Ниссля, а также гематоксилином и эозином.

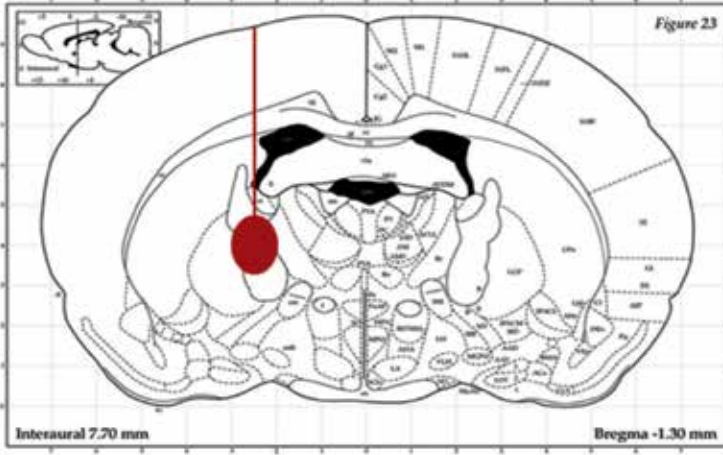
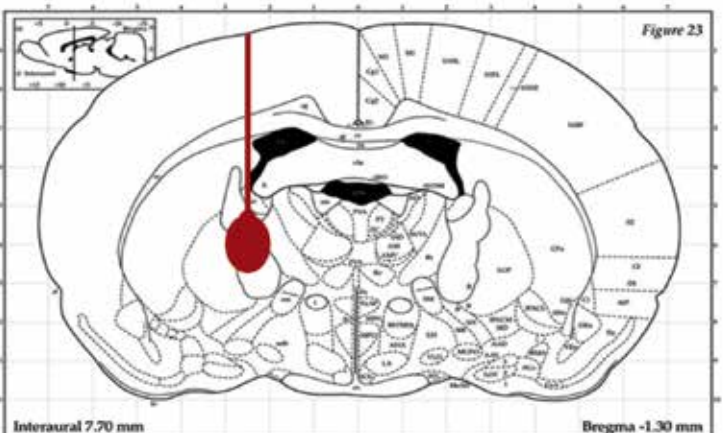
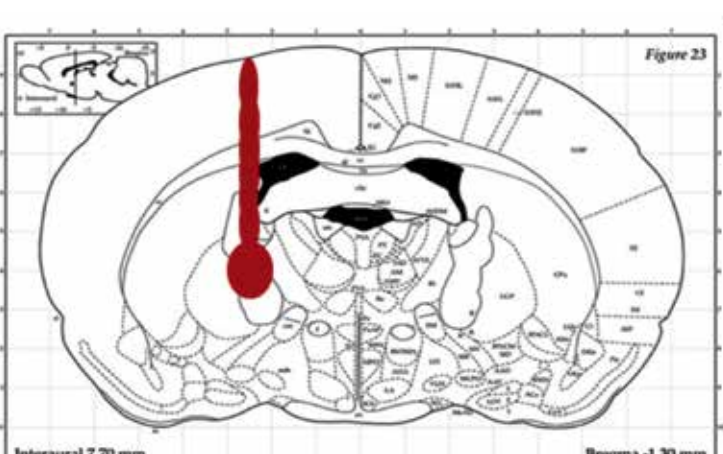
Оценка пролиферативной активности и распределения лимфоцитов по фазам клеточного цикла. Оценку пролиферативной активности определяли на 3-е сутки после операции на лимфоцитах селезенки – периферического органа иммунной системы, где происходит встреча антигена и иммунокомпетентных клеток и последующее формирование специфического иммунного ответа. Процесс индуцированной пролиферации Т- и В-лимфоцитов селезенки определяли с помощью метода проточной цитометрии, для чего ткань селезенки измельчали в среде RPMI-1640 и фильтровали до получения однородной клеточной суспензии. Клетки в концентрации 5×10^6 в 1 мл инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 3 суток в полной культуральной среде RPMI-1640 в присутствии митогенов. Состав полной культуральной среды: 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 200 мг/л глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 25 мМ 2-меркаптоэтанола. В качестве стимулятора Т-лимфоцитов использовали фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 30 мкг/мл. В качестве стимулятора В-лимфоцитов – липополисахарид E. coli (ЛПС) в концентрации 100 мкг/мл. По окончании культивирования спленоциты окрашивали флюорохромом PI. Для этого клетки в количестве 10^6 на пробу после отмывки в 5 мл забуференного физиологического раствора при 1000 об/мин в течение 10 мин ресуспендировали в 1 мл гипотонического лизирующего буфера (0,1% цитрата натрия, 0,1% Triton X-100, 5 мкг / мл PI, препараты компании «Sigma», США). После осторожного встряхивания клетки инкубировали при 22-25°C в течение 30 мин в темноте. Определяли распределение клеток по фазам клеточного цикла.

Статистический анализ проводили с использованием программ Biostat, Statistica 10.0 и Excel. Все значения даны в виде медианы и квартилей (Me [Q1; Q3]). Статистическую значимость межгрупповых различий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования

Морфологический контроль. При оценке срезов ткани головного мозга у всех животных с моделью ОНМК различной степени тяжести, через сутки после операции обнаруживается зона кровоизлияния в области внутренней капсулы слева, в группе средней степени тяжести и в группе тяжелой модели ОНМК помимо зоны кровоизлияния в области внутренней капсулы слева, также отмечены признаки деструкции тканей мозга. У всех животных с моделью ОНМК вне

**Технология моделирования различных степеней тяжести экспериментального ОНМК у животных
(левополушарный инсульт в области внутренней капсулы).**

Технология моделей	Схема моделей острой цереброваскулярной патологии
Лёгкая степень тяжести ОНМК	
<p>В условиях стереотаксиса (координаты: AP=1,3 мм; ML=2,5 мм; DV=6 мм), в область внутренней капсулы через направляющую игло-канюлю вводится мандрен-нож, далее 5-6 вращательными движениями подсекаются сосуды данной области с получением локальной гематомы.</p>	
Средняя степень тяжести ОНМК	
<p>Воспроизводится модель легкой степени тяжести экспериментального ОНМК, и в дополнение через мандрен в область разрушенной внутренней капсулы вводится аутокровь животного.</p>	
Тяжёлая степень ОНМК	
<p>Воспроизводится модель средней степени тяжести экспериментального ОНМК, и в дополнение вращательными движениями мандрена, разрушали вышележащие структуры головного мозга с последующим введением аутокрови (от внутренней капсулы до коры включительно).</p>	

зависимости от степени тяжести присутствуют выраженные изменения со стороны сосудов и межклеточного вещества, резко выраженный отек головного мозга, а также нарушение гемо- и ликводинамики. В группе контрольных и ложнооперированных животных патологические изменения не выявлены. Таким образом, описанные морфологические изменения свидетельствуют о развитии характерных признаков ОНМК при использовании данной модели, причем изменения были более выраженными в группе животных со средней и тяжёлой степенью ОНМК.

Оценка неврологического статуса. При оценке неврологического статуса на 3-й день после воспроизведения экспериментального ОНМК по шкале Stroke-index McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной было выявлено, что тяжесть экспериментальной модели соответствует тяжести неврологического статуса животных (табл. 2). Так, у животных с ОНМК тяжёлой степени, суммарный Stroke-index составляет 8,00 [7,50; 8,37], что значимо выше по сравнению с группой животных ОНМК средней тяжести и группой ОНМК легкой степени тяжести. При детальном разборе шкалы, показано, что у животных в основном отмечалась неврологическая симптоматика в правых конечностях, что также указывает на соответствие воспроизведенного экспериментального ОНМК в левом полушарии.

Оценка пролиферативной активности и распределения лимфоцитов по фазам клеточного цикла. Полученные данные по оценке пролиферативного пула лимфоцитов селезенки без стимуляции митогенами у животных с различной степенью тяжести ОНМК на 3-е сутки после моделирования патологии (табл. 3) указывают на достоверное снижение количества лимфоцитов в S-фазе (репликация ДНК) митотического цикла. Что говорит о снижении пролиферативной активности лимфоцитов при инсульте, со значимыми отличиями от контрольной группы. Статистически значимые различия прослеживаются также между группами ОНМК средней и лёгкой степени тяжести ($p = 0,002$) и между группами тяжёлого ОНМК и ОНМК средней степени ($p = 0,035$). Между группами контроля и ложнооперированными животными достоверных различий по изменению показателя лимфоцитов в S-фазе митоза не выявлено ($p = 0,796$). При этом наблюдается повышение коли-

чества клеток в фазе G2/M (подготовка к делению и митоз) – в группах с ОНМК по сравнению с контролем, и их процент растет с возрастанием тяжести ОНМК. Также в группах животных с ОНМК отмечено повышение процента лимфоцитов, которые находятся в фазе G0/G1 (синтез мРНК и белков) митотического цикла по сравнению с контролем с достоверными отличиями. Между интактными и ложнооперированными животными достоверных различий не выявлено (табл. 3).

При оценке распределения T-лимфоцитов (митоген ФГА) по фазам клеточного цикла у животных с различной степенью тяжестью ОНМК в остром периоде (3-е сутки) отмечена сходная тенденция, что и при распределении лимфоцитов без стимуляции митогеном, а именно: уменьшение пролиферативного пула T-лимфоцитов, находящихся в S-фазе митотического цикла. Процент T-лимфоцитов в S-фазе в группах с экспериментальным ОНМК был достоверно меньше по сравнению с контролем, также достоверные различия по этому параметру прослеживаются между группами ОНМК средней степени и лёгкой степени ($p = 0,05$), и ОНМК тяжёлой степени и средней степени ($p = 0,001$) (рисунок). В отношении фазы G2/M сохраняется тенденция увеличения пула T-лимфоцитов в группах животных с экспериментальным ОНМК по сравнению с контролем. Указанные изменения нарастают с повышением степени тяжести ОНМК. Различий между группами интактных и ложнооперированных животных по всем параметрам фазы клеточного цикла не отмечено.

Полученные данные указывают в целом на снижение пролиферативной активности лимфоцитов селезенки (без стимуляции митогенами) и T-лимфоцитов (митоген ФГА) при ОНМК, о чем свидетельствуют уменьшение пула лимфоцитов в фазе S клеточного цикла, в котором происходит репликация ДНК, при одновременном повышении процента лимфоцитов в фазе G0/G1 (фаза покоя, в данных фазах происходит синтез мРНК и белков) [19]. С другой стороны, отмечено повышение количества лимфоцитов, которые находятся в фазе G2/M, что указывает на активное деление, т.е. непосредственно пролиферацию клеток. Данные изменения в фазах клеточного цикла нарастают, с повышением степени тяжести инсульта.

Таблица 2.

Неврологический дефицит у животных с различной степенью тяжести экспериментального острого нарушения мозгового кровообращения.

Параметры	Экспериментальные группы				
	Контроль, $n = 10$	Ложная операция, $n = 10$	ОНМК, лёгкая степень, $n = 10$	ОНМК, средняя степень, $n = 10$	ОНМК, тяжёлая степень, $n = 10$
Stroke-index Me (Q1; Q3)	0	0	4,25 [3,13; 4,50]	6,25 [5,25; 6,88]	8,00 [7,50; 8,38]
p U-тест Манна-Уитни	-	-	<0,001*	<0,001* <0,001**	<0,001* <0,001** <0,001***

Примечания: обозначения статистической значимости различий: * – по сравнению с контрольной группой; ** – по сравнению с группой ОНМК лёгкая степень; *** – по сравнению с группой ОНМК средняя степень.

Интересный факт отмечен при анализе распределения В-лимфоцитов (митоген ЛПС) по фазам клеточного цикла, который заключается в общем снижении пролиферативной активности В-лимфоцитов, на что указывают снижение пула клеток в группах ОНМК в фазе S с достоверными отличиями по сравнению с группой контроля. Указанные изменения нарастают с утяжелением модели ОНМК, с достоверными различиями между группой ОНМК тяжёлой, средней ($p = 0,011$) и лёгкой степени ($p = 0,002$). В фазе G2/M отмечено также снижение пула клеток в группах ОНМК по сравнению с контролем. Данная тенденция нарастает с повышением степени тяжести с достоверными отличиями между группами с ОНМК. Отмечено также увеличение клеток в фазе G0/G1 в группах с ОНМК, с достоверными отличиями от контроля. Данные изменения также нарастают с повышением тяжести модели ОНМК со значимыми различиями между группами с экспериментальной патологией. Достоверной разницы между группой контроля и ложнооперированных животных по всем фазам митотического цикла выявлено не было (см. рисунок).

Обсуждение результатов

Проведенное исследование выявило некоторые закономерности системной реакции иммуокомпетентных клеток в остром периоде инсульта, которые проявляются в изменении распределения лимфоцитов по фазам клеточного цикла, причем данные изменения нарастают с увеличением степени тяжести

ОНМК. Выбранная модель инсульта в области внутренней капсулы слева (различной степени тяжести) соответствует тяжести неврологического статуса экспериментальных животных в острейшем периоде ОНМК.

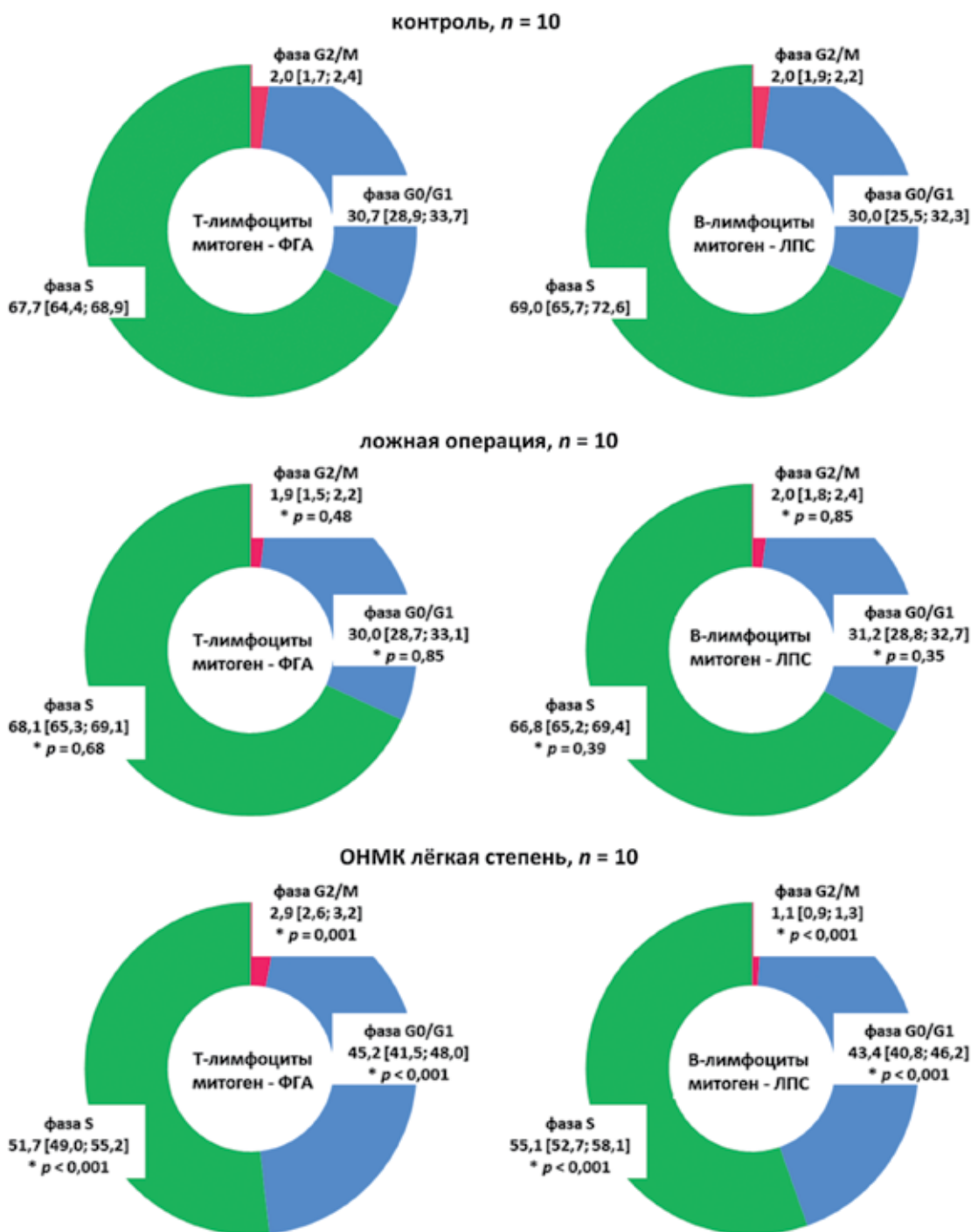
Изменения в распределении лимфоцитов по фазам митотического цикла складываются из увеличения доли клеток, которые находятся в фазе G0/G1, т.е. в фазе покоя, в которой происходит синтез мРНК и белков для последующего деления клетки и снижения доли клеток в фазе S, в которой наблюдается репликация ДНК, т.е. фактически активная подготовка к фазе G2/M. Данные нарушения характерны и для Т- и для В-лимфоцитов селезенки, они указывают в целом на снижение их пролиферативной активности и являются проявлением инсульт-индуцированного иммунодефицита, что соответствует данным литературы, в которых описывается снижение количества лимфоцитов в остром периоде инсульта [7]. Механизмы развития иммунодефицита при острой цереброваскулярной патологии связывают с активацией симпатоадреналовой системы и повышением уровня глюкокортикоидов и катехоламинов в периферической крови [20, 21]. Вместе с тем, в отношении Т-лимфоцитов отмечен интересный факт, который заключается в повышении пула лимфоцитов, находящихся в фазе G2/M (непосредственно деление клетки) на фоне уменьшения пула клеток в фазе S. То есть, с одной стороны наблюдается снижение пролиферации, в виде уменьшения пула клеток в фазе S и увеличения клеток в фазе G0/G1, а с другой стороны

Таблица 3.

Распределение лимфоцитов по фазам клеточного цикла при остром нарушении мозгового кровообращения в левом полушарии различной степени тяжести.

Экспериментальные группы	Параметры	Клетки в фазах клеточного цикла (%)		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
Контроль, $n = 10$	Me [Q1; Q3]	30,36 [28,93; 31,89]	69,49 [67,97; 70,87]	0,15 [0,11; 0,18]
	p (*)	0,796	0,796	0,393
Ложная операция, $n = 10$	Me [Q1; Q3]	30,79 [28,68; 32,86]	69,11 [66,97; 71,16]	0,17 [0,14; 0,19]
	p (*)	0,796	0,796	0,393
ОНМК лёгкая степень, $n = 10$	Me [Q1; Q3]	41,86 [40,05; 43,17]	56,99 [55,01; 58,59]	1,93 [1,18; 2,02]
	p (*)	<0,001	<0,001	<0,001
ОНМК средняя степень, $n = 10$	Me [Q1; Q3]	46,43 [44,62; 51,83]	50,58 [45,82; 52,81]	2,69 [2,56; 2,85]
	p (*)	<0,001	<0,001	<0,001
	p (**)	0,009	0,002	<0,001
ОНМК тяжёлая степень, $n = 10$	Me [Q1; Q3]	51,15 [49,12; 52,33]	44,74 [43, 27; 47,04]	4,07 [3,83; 4,23]
	p (*)	<0,001	<0,001	<0,001
	p (**)	<0,001	<0,001	<0,001
	p (***)	0,143	0,035	<0,001

Примечания: обозначения статистической значимости различий (по критерию Манна-Уитни): * – по сравнению с контрольной группой; ** – по сравнению с группой ОНМК лёгкая степень; *** – по сравнению с группой ОНМК средняя степень.



Продолжение рисунка см. на стр. 63.

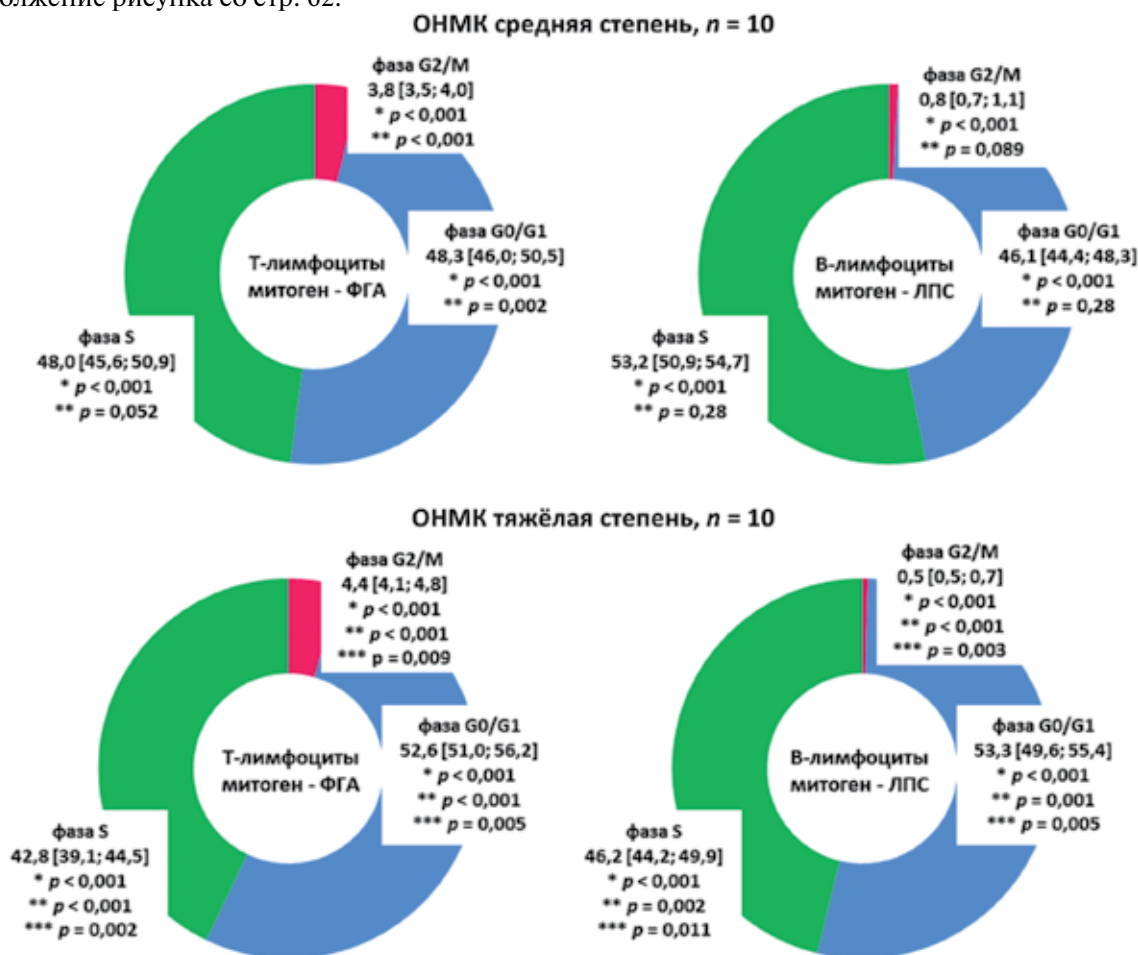
Распределение Т- и В-лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла (%) при экспериментальном ОНМК в левом полушарии различной степени тяжести. Обозначения: статистической значимости различий (по критерию Манна-Уитни): * — по сравнению с контрольной группой; ** — по сравнению с группой ОНМК лёгкая степень; *** — по сравнению с группой ОНМК средняя степень.

увеличение клеток в фазе G2/M. Данная особенность распределения Т-лимфоцитов по фазам клеточного цикла, по-видимому, связана с ускоренным переходом определенного пула Т-лимфоцитов в фазу деления клетки в виде ответа системного иммунитета на выброс нейроантигенов, учитывая специфику мо-

дели ОНМК. Ускоренный переход из фазы S в фазу G2/M можно также связать с возможным влиянием выброса нейротрофических факторов на факторы регуляции митоза [22].

Распределение В-лимфоцитов по фазам клеточного цикла выражается не только в уменьшения

Продолжение рисунка со стр. 62.



Распределение Т- и В-лимфоцитов селезенки по фазам клеточного цикла (%) при экспериментальном ОНМК в левом полушарии различной степени тяжести. Обозначения: статистической значимости различий (по критерию Манна-Уитни): * — по сравнению с контрольной группой; ** — по сравнению с группой ОНМК лёгкая степень; *** — по сравнению с группой ОНМК средняя степень.

пула клеток, находящихся в фазе S и увеличении доли клеток в фазе G0/G1, но и в уменьшении доли клеток в фазе G2/M, что указывает на снижение пролиферативной активности В-лимфоцитов и подавление гуморального звена иммунитета в остром периоде ОНМК. Подавление пролиферативной активности В-лимфоцитов в нашем исследовании соответствует данным литературы, по снижению количества циркулирующих В-клеток селезенки при инсульте [23].

Еще одна закономерность, обнаруженная в данном исследовании — это нарастание нарушения распределения Т- и В-лимфоцитов по фазам клеточного цикла и снижение пролиферативной активности при увеличении тяжести острой цереброваскулярной патологии. Это имеет ключевое значение для выделения определённых групп риска среди пациентов с инсультом, для оценки иммунного статуса и рассмотрения вопроса о проведении иммунокоррекции с целью профилактики инфекционно-воспалительных осложнений.

Заключение

Таким образом, моделирование экспериментального ОНМК различной степени тяжести с локализацией очага инсульта в области внутренней капсулы слева в остром периоде приводит к нарушению распределения Т- и В-лимфоцитов по фазам клеточного цикла что выражается в снижении пролиферативной активности данных иммунокомпетентных клеток, которое нарастает с увеличением степени тяжести острого нарушения мозгового кровообращения.

Список литературы

1. Mueller K.L., Hines P.J., Travis J. Neuroimmunology. Science. 2016; 353(6301): 760-761. DOI: 10.1126/science.353.6301.760
2. Jassam Y.N., Izzy S., Whalen M., McGavern D.B., El Khoury J. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift. Neuron. 2017; 95(6): 1246-1265. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.07.010
3. Rayasam A., Hsu M., Kijak J.A., Kissel L., Hernandez G., Sandoz M., Fabry Z. Immune responses in stroke: how the immune system contributes to damage and healing after stroke and how this knowledge could be translated to better cures? Immunology. 2018; 154(3): 363-376. DOI: 10.1111/imm.12918

4. Malone K., Amu S., Moore A.C., Waeber C. The immune system and stroke: from current targets to future therapy. *Immunol. Cell Biol.* 2019; 97(1): 5-16. DOI: 10.1111/imcb.12191
5. Kim E., Cho S. Microglia and Monocyte-Derived Macrophages in Stroke. *Neurotherapeutics.* 2016; 13(4): 702-718. DOI: 10.1007/s13311-016-0463-1
6. Ao L.Y., Yan Y.Y., Zhou L., Li C.Y., Li W.T., Fang W.R., Li Y.M. Immune Cells After Ischemic Stroke Onset: Roles, Migration, and Target Intervention. *J. Mol. Neurosci.* 2018; 66(3): 342-355. DOI: 10.1007/s12031-018-1173-4
7. Черных Е.Р., Шевела Е.Я., Морозов С.А., Останин А.А. Иммунопатогенетические аспекты ишемического инсульта. *Медицинская иммунология.* 2018; 20(1): 19-34. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-1-19-34
8. Chamorro Á., Meisel A., Planas A.M., Urra X., van de Beek D., Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat. Rev. Neurol.* 2012; 8(7): 401-410. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.98
9. Hannawi Y., Hannawi B., Rao C.P., Suarez J.I., Bershada E.M. Stroke-associated pneumonia: major advances and obstacles. *Cerebrovasc. Dis.* 2013; 35(5): 430-443. DOI: 10.1159/000350199
10. Iadecola C., Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat. Med.* 2011; 17(7): 796-808. DOI: 10.1038/nm.2399
11. Stott D.J., Falconer A., Miller H., Tilston J.C., Langhorne P. Urinary tract infection after stroke. *QJM.* 2009; 102(4): 243-249. DOI: 10.1093/qjmed/hcp012
12. Hug A., Dalpke A., Wiczorek N., Giese T., Lorenz A., Auffarth G., Liesz A., Veltkamp R. Infarct volume is a major determinant of post-stroke immune cell function and susceptibility to infection. *Stroke.* 2009; 40(10): 3226-3232. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.557967
13. Urra X., Miró F., Chamorro A., Planas A.M. Antigen-specific immune reactions to ischemic stroke. *Front. Cell Neurosci.* 2014; 8: 278. DOI: 10.3389/fncel.2014.00278
14. Westendorp W.F., Nederkoorn P.J., Vermeij J.D., Dijkgraaf M.G., van de Beek D. Post-stroke infection: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol.* 2011; 11: 110. DOI: 10.1186/1471-2377-11-110
15. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Source 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. 246 p.
16. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Пасикова Н.В., Свинов М.М. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных. *Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова.* 2002; 52 (6): 765-768.
17. Ганнушкина И.В. Иммунологические аспекты травмы и сосудистых поражений головного мозга. М.: Медицина, 1974. 199 с.
18. Ганнушкина И.В. Патофизиологические механизмы нарушений мозгового кровообращения и новые направления в их профилактике и лечении. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова.* 1996; 96(1): 14-20.
19. Bell S.P., Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. *Annu. Rev. Biochem.* 2002; 71: 333-374. DOI: 10.1146/annurev.biochem.71.110601.135425
20. Anne M., Juha K., Timo M., Mikko T., Olli V., Kyosti S., Heikki H., Vilho M. Neurohormonal activation in ischemic stroke: effects of acute phase disturbances on long-term mortality. *Curr. Neurovasc. Res.* 2007; 4(3): 170-175.
21. Meisel C., Schwab J., Prass K., Meisel A., Dirnagl U. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005; 6 (10): 775-786. DOI: 10.1038/nrn1765
22. Stone W.L., Varacallo M. *Physiology, Growth Factor.* StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018.
23. Offner H., Subramanian S., Parker S.M., Wang C., Afentoulis M.E., Lewis A., Vandenberg A.A., Hurn P.D. Splenic atrophy in experimental stroke is accompanied by increased regulatory T cells and circulating macrophages. *J. Immunol.* 2006; 176(11): 6523-6531.

References

1. Mueller K.L., Hines P.J., Travis J. *Neuroimmunology.* Science. 2016; 353(6301): 760-761. DOI: 10.1126/science.353.6301.760
2. Jassam Y.N., Izzy S., Whalen M., McGavern D.B., El Khoury J. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift. *Neuron.* 2017; 95(6): 1246-1265. DOI: 10.1016/j.neuron.2017.07.010
3. Rayasam A., Hsu M., Kijak J.A., Kissel L., Hernandez G., Sander M., Fabry Z. Immune responses in stroke: how the immune system contributes to damage and healing after stroke and how this knowledge could be translated to better cures? *Immunology.* 2018; 154(3): 363-376. DOI: 10.1111/imm.12918
4. Malone K., Amu S., Moore A.C., Waeber C. The immune system and stroke: from current targets to future therapy. *Immunol. Cell Biol.* 2019; 97(1): 5-16. DOI: 10.1111/imcb.12191
5. Kim E., Cho S. Microglia and Monocyte-Derived Macrophages in Stroke. *Neurotherapeutics.* 2016; 13(4): 702-718. DOI: 10.1007/s13311-016-0463-1
6. Ao L.Y., Yan Y.Y., Zhou L., Li C.Y., Li W.T., Fang W.R., Li Y.M. Immune Cells After Ischemic Stroke Onset: Roles, Migration, and Target Intervention. *J. Mol. Neurosci.* 2018; 66(3): 342-355. DOI: 10.1007/s12031-018-1173-4
7. Chernykh E.R., Shevela E.Ya., Morozov S.A., Ostanin A.A. [Immunopathogenic aspects of ischemic stroke]. *Medicinskaya immunologiya [Medical immunology].* 2018; 20(1): 19-34. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-1-19-34 (in Russian)
8. Chamorro Á., Meisel A., Planas A.M., Urra X., van de Beek D., Veltkamp R. The immunology of acute stroke. *Nat. Rev. Neurol.* 2012; 8(7): 401-410. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.98
9. Hannawi Y., Hannawi B., Rao C.P., Suarez J.I., Bershada E.M. Stroke-associated pneumonia: major advances and obstacles. *Cerebrovasc. Dis.* 2013; 35(5): 430-443. DOI: 10.1159/000350199
10. Iadecola C., Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat. Med.* 2011; 17(7): 796-808. DOI: 10.1038/nm.2399
11. Stott D.J., Falconer A., Miller H., Tilston J.C., Langhorne P. Urinary tract infection after stroke. *QJM.* 2009; 102(4): 243-249. DOI: 10.1093/qjmed/hcp012
12. Hug A., Dalpke A., Wiczorek N., Giese T., Lorenz A., Auffarth G., Liesz A., Veltkamp R. Infarct volume is a major determinant of post-stroke immune cell function and susceptibility to infection. *Stroke.* 2009; 40(10): 3226-3232. DOI: 10.1161/STROKEAHA.109.557967
13. Urra X., Miró F., Chamorro A., Planas A.M. Antigen-specific immune reactions to ischemic stroke. *Front. Cell Neurosci.* 2014; 8: 278. DOI: 10.3389/fncel.2014.00278
14. Westendorp W.F., Nederkoorn P.J., Vermeij J.D., Dijkgraaf M.G., van de Beek D. Post-stroke infection: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol.* 2011; 11: 110. DOI: 10.1186/1471-2377-11-110
15. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Source 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. 246 p.
16. Makarenko A.N., Kositsyn N.S., Pasikova N.V., Svinov M.M. [The method of modeling local hemorrhage in various structures of the brain in experimental animals]. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatel'nosti im. I.P. Pavlova [I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity].* 2002; 52(6): 765-768. (in Russian)
17. Gannushkina I.V. [Immunological aspects of trauma and vascular lesions of the brain]. М.: Medicine, 1974. 199 p. (in Russian)

-
18. Gannushkina I.V. [Pathophysiological mechanisms of cerebral circulation disorders and new directions in their prevention and treatment]. Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]. 1996; (1): 14-20. (in Russian)
 19. Bell S.P., Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. Annu. Rev. Biochem. 2002; 71: 333-374. DOI: 10.1146/annurev.biochem.71.110601.135425
 20. Anne M., Juha K., Timo M., Mikko T., Olli V., Kyosti S., Heikki H., Vilho M. Neurohormonal activation in ischemic stroke: effects of acute phase disturbances on long-term mortality. Curr. Neurovasc. Res. 2007; 4(3): 170-175.
 21. Meisel C., Schwab J., Prass K., Meisel A., Dirnagl U. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. Nat. Rev. Neurosci. 2005; 6 (10): 775-786. DOI: 10.1038/nrn1765
 22. Stone W.L., Varacallo M. Physiology, Growth Factor. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018.
 23. Offner H., Subramanian S., Parker S.M., Wang C., Afentoulis M.E., Lewis A., Vandenbark A.A., Hurn P.D. Splenic atrophy in experimental stroke is accompanied by increased regulatory T cells and circulating macrophages. J. Immunol. 2006; 176(11): 6523-6531.

Сведения об авторах:

Кульчиков Андрей Евгеньевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории общей и перинатальной нейроиммунопатологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Морозов Сергей Георгиевич – доктор медицинский наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Мусин Рашид Сяитович – доктор медицинский наук, профессор кафедры нервных болезней лечебного факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Гриненко Елена Анатольевна – доктор медицинский наук, научный сотрудник Отделения реанимации и интенсивной терапии Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 581.133.12

Сравнительное исследование оксидантных свойств окисленных и неокисленных бисретиноидов липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия глаза человека

Яковлева М.А.¹, Сакина Н.Л.¹, Кольчугина И.Б.², Арбуханова П.М.³, Борзенко С.А.³, Фельдман Т.Б.^{1,2}, Островский М.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля» Российской академии наук.

119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

119991, Москва, Ленинские горы, д. 1

³ Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр

«Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации.

127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А

Актуальность. Недавно нами было показано, что при возрастной макулярной дегенерации сетчатки наблюдается повышенное содержание продуктов фотоокисления и фотодегградации бисретиноидов по сравнению с нормой. Поэтому на сегодняшний день вопрос о фототоксичности этих продуктов становится актуальным для решения проблемы поиска путей лечения и профилактики патологии.

Цель. Провести сравнительное исследование фотосенсибилизирующего действия N-ретинылиден-N-ретинылэтанолamina (A2E) и продуктов его фотоокисления и фотодегградации на индуцированную видимым светом пероксидацию липидов фоторецепторных мембран.

Материалы и методы. При помощи метода высокоэффективной жидкостной хроматографии были получены отдельные фракции неокисленных и окисленных бисретиноидов в хлороформном экстракте липофусциновых гранул из ретинального пигментного эпителия кадаверных глаз.

Результаты. Проведено сравнительное исследование фототоксических свойств неокисленных и окисленных бисретиноидов липофусциновых гранул из клеток ретинального пигментного эпителия глаза человека на пероксидацию липидов наружных сегментов фоторецепторных клеток. Выводы. Окисленные бисретиноиды липофусциновых гранул менее фототоксичны по сравнению с их неокисленными формами.

Ключевые слова: глаз; ретинальный пигментный эпителий; липофусциновые гранулы; бисретиноиды; пероксидация.

Для цитирования: Яковлева М.А., Сакина Н.Л., Кольчугина И.Б., Арбуханова П.М., Борзенко С.А., Фельдман Т.Б., Островский М.А. Сравнительное исследование оксидантных свойств окисленных и неокисленных бисретиноидов липофусциновых гранул ретинального пигментного эпителия глаза человека. *Патогенез*. 2019; 17(1): 66-71.

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.66-71.

Для корреспонденции: Яковлева Марина Андреевна, e-mail: lina.invers@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований президиума РАН № 42 «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий»

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.10.2018

Comparative study of oxidant properties of oxidized and unoxidized bisretinoids of lipofuscin granules in the retinal pigment epithelium of human eye

Yakovleva M.A.¹, Sakina N.L.¹, Kolchugina I.B.², Arbukhanova P.M.³, Borzenok S.A.³, Feldman T.B.^{1,2}, Ostrovsky M.A.^{1,2}

¹ N.M.Emanuel Institute for Biochemical Physics,

Kosygina Str. 4, Moscow 119334, Russian Federation

² M.V.Lomonosov Moscow State University.

Leninskie Gory 1, Moscow 119991, Russian Federation

³ S.N.Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution,

Beskudnikovskij Blvd. 59a, Moscow 127486, Russian Federation

Background. Recently we have shown that age-related macular degeneration is associated with higher than normal levels of bisretinoid photo-oxidation and photo-degradation products. Therefore, the issue of their phototoxicity currently becomes relevant for finding ways to treat and prevent this pathology.

Aim. To conduct a comparative study of the photosensitizing effect of N-retinylidene-N-retinylethanolamine (A2E) and its photooxidation and photodegradation products on light-induced lipid peroxidation in photoreceptor membranes.

Materials and methods. Using high-performance liquid chromatography fractions of unoxidized and oxidized bisretinoids were isolated in the chloroform extract of lipofuscin granules from the retinal pigment epithelium of cadaver eyes.

Results. The study compared phototoxic effects of unoxidized and oxidized bisretinoids of lipofuscin granules from human retinal pigment epithelial cells on lipid peroxidation in rod outer segments.

Conclusions. Oxidized bisretinoids of lipofuscin granules are less phototoxic compared to their unoxidized forms.

Key words: eye; retinal pigment epithelium; lipofuscin granules; bisretinoids; peroxidation.

For citation: Yakovleva M.A., Sakina N.L., Kolchugina I.B., Arbukhanova P.M., Borzenok S.A., Feldman T.B., Ostrovsky M.A.

[Comparative study of oxidant properties of oxidized and unoxidized bisretinoids of lipofuscin granules in the retinal pigment epithelium of human eye]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 66-71. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.66-71.

For correspondence: Yakovleva Marina Andreevna, e-mail: lina.invers@gmail.com

Funding. This work was supported by the program of fundamental research of the Presidium of the Russian Academy of Sciences No. 42 «Basic research for biomedical technologies»

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 20.10.2018

Введение

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) — это хроническая прогрессирующая патология, приводящая к поражению макулярной зоны глазного дна и потере центрального зрения [1]. Предполагается, что развитие этой патологии связано с прогрессирующим накоплением так называемого «пигмента старости» — липофусциновых гранул (ЛГ) в клетках ретинального пигментного эпителия (РПЭ) [2].

ЛГ — это сложные липидно-белковые структуры, образующиеся в результате неполной лизосомальной деградации обломков фоторецепторов в клетках РПЭ [3]. Они обладают ярко выраженной флуоресценцией, обусловленной наличием в них более чем 20 флуорофоров, представляющих собой бисретиноиды и продукты их фотоокисления и фотодеградации [4, 5]. Структура большей части флуорофоров еще точно не установлена, наиболее изученным является флуорофор — бис-ретинолиден этаноламин (A2E) [6].

Известно, что ЛГ способны генерировать активные формы кислорода (АФК) при поглощении света в видимой области спектра, особенно в его синей спектральной составляющей [7]. АФК, в свою очередь, могут инициировать процессы пероксидного окисления липидов с образованием высоко реактивных низкомолекулярных соединений, альдегидов и кетонов, повреждающих клеточные структуры. Фотосенсибилизаторами в ЛГ являются бисретиноиды и их производные [8-10], при этом сами бисретиноиды могут являться одновременно и тушителями АФК [11]. Продукты фотоокисления и фотодеградации бисретиноидов могут проявлять токсические свойства и в отсутствие света, повреждая ДНК [12]. Кроме того, эти продукты обладают и слабыми фототоксичными свойствами [10]. Остается невыясненным до конца вопрос, являются ли продукты фотоокисления и фотодеградации более фототоксичными по сравнению с неокисленными бисретиноидами.

Недавно нами было показано, что при ВМД наблюдается повышенное содержание продуктов фотоокисления и фотодеградации бисретиноидов [13, 14] по сравнению с нормой. Поэтому на сегодняшний день вопрос о степени фототоксичности этих про-

дуктов становится актуальным для решения проблемы поиска путей лечения и профилактики патологии ВМД.

Целью данной работы было сравнительное изучение влияния бисретиноидов и продуктов их фотоокисления и фотодеградации на процессы пероксидации липидов, вызванные видимым светом.

Материалы и методы исследования

Реактивы. В работе были использованы реактивы производства «Sigma-Aldrich», «Fluka», «Компонент-реактив», пластиковые одноразовые пробирки на 1 мл и одноразовые пипетки производства «Eppendorf». Для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) использовали растворители производства «Sigma-Aldrich» и «Fluka» хроматографической чистоты.

Материал. Кадаверные глаза человека были получены Глазным тканевым банком ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» от доноров из танатологических отделений московского бюро судебно-медицинской экспертизы на основании действующего договора между московским бюро судебно-медицинской экспертизы и ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова», а также договора о научном сотрудничестве между ИБХФ РАН и ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» [13]. Анализ и скрининговый отбор донорского материала проводили по клиническим, половым и возрастным признакам. Исследование образцов проводили при приглушенном освещении.

Выделение липофусциновых гранул и получение хлороформных экстрактов бисретиноидов и их производных. ЛГ были выделены из РПЭ 100 кадаверных глаз доноров возраста 50-75 лет согласно методике, описанной в работе [7] и суспендированы в растворе 0,1 М К-фосфатного буфера, pH 7,3. Бисретиноиды и их производные экстрагировали из ЛГ по методу Фолча смесью хлороформ-метанол (1 : 1) [14].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ-анализ). Хроматографическое разделение бисретиноидов и продуктов их фотоокисления и фото-

деградации в хлороформных экстрактах ЛГ из РПЭ проводили на хроматографе фирмы «Кнауер» (Германия) с колонкой «Диасфер 120 С18» (4 × 250 мм, размер сорбента 5 мкм). Разделение осуществляли путем линейного градиентного элюирования в системе: от 80% ацетонитрила + 20% воды (+ 0,05% трифторуксусной кислоты) до 100% ацетонитрила за 20 мин; скорость потока 1,5 мл / мин. Продукты хроматографического разделения измеряли при помощи фотометрического детектора «Кнауер К-2501» при длине волны поглощения 430 нм. Полученные отдельные фракции упаривали до состояния пленки при помощи вакуумного насоса («Vacuubrand MZ 2CNT+AK+M+D», Германия). Полученные образцы хранили при – 80°С.

Измерение спектров поглощения. Абсорбционные спектры измеряли на спектрофотометре «Shimadzu UV-1601PC» (Япония).

Синтез А2Е. А2Е был синтезирован и очищен с использованием методов, описанных в работе [15]. Чистоту А2Е контролировали методом ВЭЖХ на хроматографе фирмы «Кнауер» (Германия). Концентрацию А2Е определяли спектрофотометрически на спектрофотометре «Shimadzu UV-1700» (Япония) при длине волны 430 нм и $\epsilon = 3,1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$.

Для облучения образцов А2Е (концентрация 23 мкМ) была использована лампа накаливания КГМ 24-150 мощностью 150 Вт, оптическая система слайд-проектора с тепловым фильтром. Облучение образцов осуществляли полным белым светом в видимом диапазоне (390-700 нм) с энергией облучения 0,1 – 0,12 Вт / см² при комнатной температуре и непрерывном перемешивании. Поверхностная плотность потока световой энергии, падающей на образец, составляла 100 мВт / см² для видимого света (400–700 нм). Мощность потока световой энергии была определена при помощи фотометра «Spectra-Physics» модель 407А (США).

Получение наружных сегментов палочек сетчатки из глаз быка. Наружные сегменты палочек (НСП) сетчатки были получены из свежих темноадаптированных (в течение шести часов после забоя животных) бычьих глаз в соответствии с модифицированным методом препаративного центрифугирования в градиенте плотности сахарозы [16]. Выделенные НСП хранили при –20°С. Для проведения дальнейших экспериментов НСП суспендировали в фосфатном буфере.

Определение ТБК-активных продуктов. Процесс перекисидации липидов индуцировали облучением видимым светом суспензии НСП в присутствии бисретиноидов и / или продуктов их фотоокисления и фотодегградации. Бисретиноиды добавляли к НСП в виде раствора в метаноле. В контроль добавляли эквивалентное количество чистого метанола. Конечная концентрация метанола в смеси не превышала 3%. Степень фотоперекисидации липидов определяли по накоплению продуктов реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты) на длине волны 532 нм [17] на спектрофотометре «Shimadzu UV-1700» (Япония). Среднюю скорость накопления ТБК-активных про-

дуктов рассчитывали путем измерения концентрации ТБК-активных продуктов, образовавшихся через 20, 40 и 60 мин после начала облучения, в трёх повторях. Облучение образцов проводили при условиях, аналогичных облучению А2Е (см. раздел Синтез А2Е).

Результаты исследования и обсуждение

Сравнительное изучение влияния А2Е и продуктов его фотоокисления на перекисидацию липидов НСП сетчатки из глаз быка, индуцированную видимым светом. На рис. 1, А представлены спектры поглощения А2Е до и после воздействия света в видимой области. Как известно, облучение А2Е приводит к образованию эпоксиформ и фуранопроизводных, возникающих как за счет разрыва двойных связей в полиеновой цепи молекулы, так и за счет окисления ее гексановых колец [9, 18]. Характерное снижение интенсивности поглощения в области 350-450 нм и его нарастание в области 260-300 нм указывает на образование продуктов фотоокисления и фотодегградации этого бисретиноида [13]. Следует отметить, что такие же продукты фотоокисления А2Е обнаружены и в экстрактах ЛГ из РПЭ глаза человека [9].

Сравнительный ВЭЖХ анализ (рис. 1, Б) необлученного и облученного А2Е также указывает на то, что воздействие света приводит к образованию продуктов его фотоокисления и фотодегградации [13]. Это приводит к появлению новых пиков на хроматограмме 2 с меньшими временами удерживания, обусловленных более полярными продуктами по сравнению с самим А2Е (хроматограмма 1).

Для сравнительного изучения фототоксических свойств А2Е и продуктов его фотоокисления и фотодегградации был индуцирован в их присутствии процесс фотоперекисидации липидов в НСП. Из рис. 1, В видно, что скорость и уровень накопления ТБК-активных продуктов заметно выше в случае, когда в суспензии НСП присутствовал необлученный А2Е. Другими словами, А2Е проявляет фототоксическое воздействие на фоторецепторные мембраны в большей степени по сравнению с продуктами его фотоокисления и фотодегградации. Скорее всего, этот факт можно объяснить тем, что спектр поглощения продуктов фотоокисления и фотодегградации А2Е сдвинут в УФ-область, соответственно, они в меньшей мере поглощают видимый свет по сравнению с самим А2Е и, следовательно, степень их фототоксического действия на липиды снижается [10].

Сравнительное изучение влияния неокисленных и окисленных бисретиноидов липофусциновых гранул на процесс перекисидации липидов НСП, индуцированный видимым светом. Воздействие света на ЛГ приводит к фотоокислению и фотодегградации входящих в их состав, как самого А2Е, так и других производных полностью-транс ретиналя [13]. Остается открытым вопрос, уменьшается ли степень фототоксичности продуктов фотоокисления и фотодегградации по сравнению с неокисленными бисретиноидами в ЛГ.

На рис. 2 представлены результаты сравнительного анализа физико-химических свойств отдель-

ных групп ретиноидов в хлороформном экстракте ЛГ из РПЭ кадаверных глаз человека. Хлороформный экстракт ЛГ был разделен хроматографически на три фракции (рис. 2, А). Фракция 1 содержала продукты фотоокисления и фотодеградации бисретиноидов [13]; фракция 2 – А2Е и его изоформу [13]; фракция 3 – другие производные полностью-транс ретиналя (неокисленные бисретиноиды) [19]. Спектры поглощения этих фракций, представленные на рис. 2, Б, хорошо согласуются с ранее полученными данными [13].

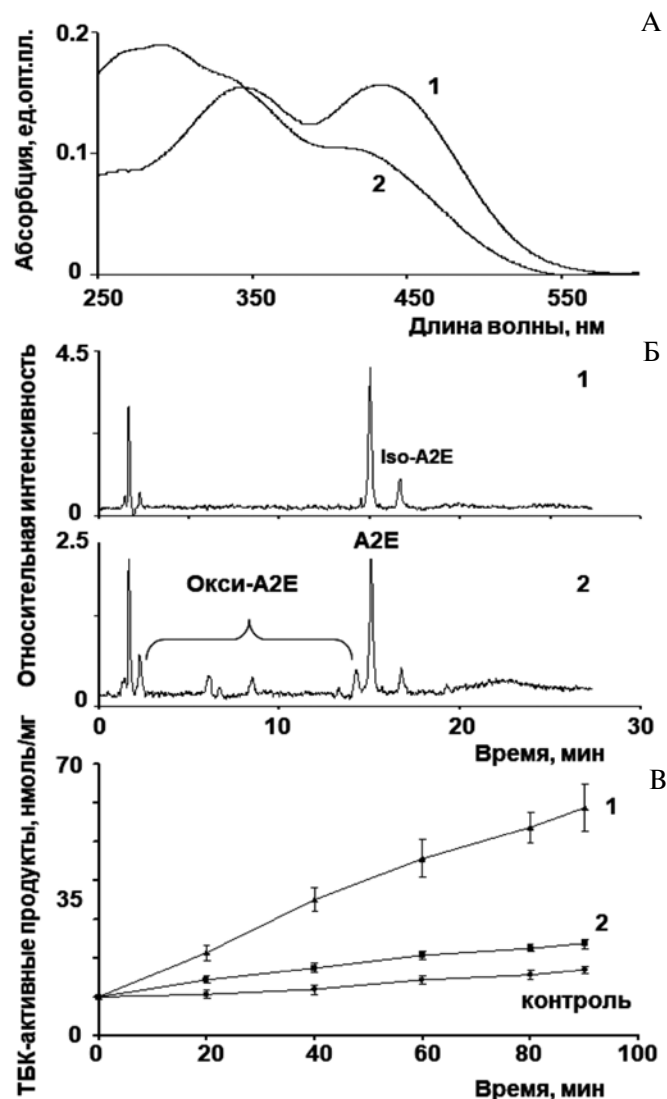


Рис. 1. Влияние облучения на физико-химические характеристики и прооксидантную активность синтетического А2Е (1) и продуктов его фотоокисления и фотодеградации (2). А – спектры поглощения; Б – ВЭЖХ анализ, детектирование по поглощению на длине волны 430 нм; В – скорость накопления ТБК-активных продуктов при освещении видимым светом суспензии НСП в присутствии А2Е (1) и / или продуктов его фотоокисления и фотодеградации (2) и в отсутствие бисретиноидов и их производных (контроль); данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения (по трём повторам).

Для каждой из полученных фракций было проведено исследование их влияния на пероксидацию липидов НСП, индуцированную видимым светом. Следует

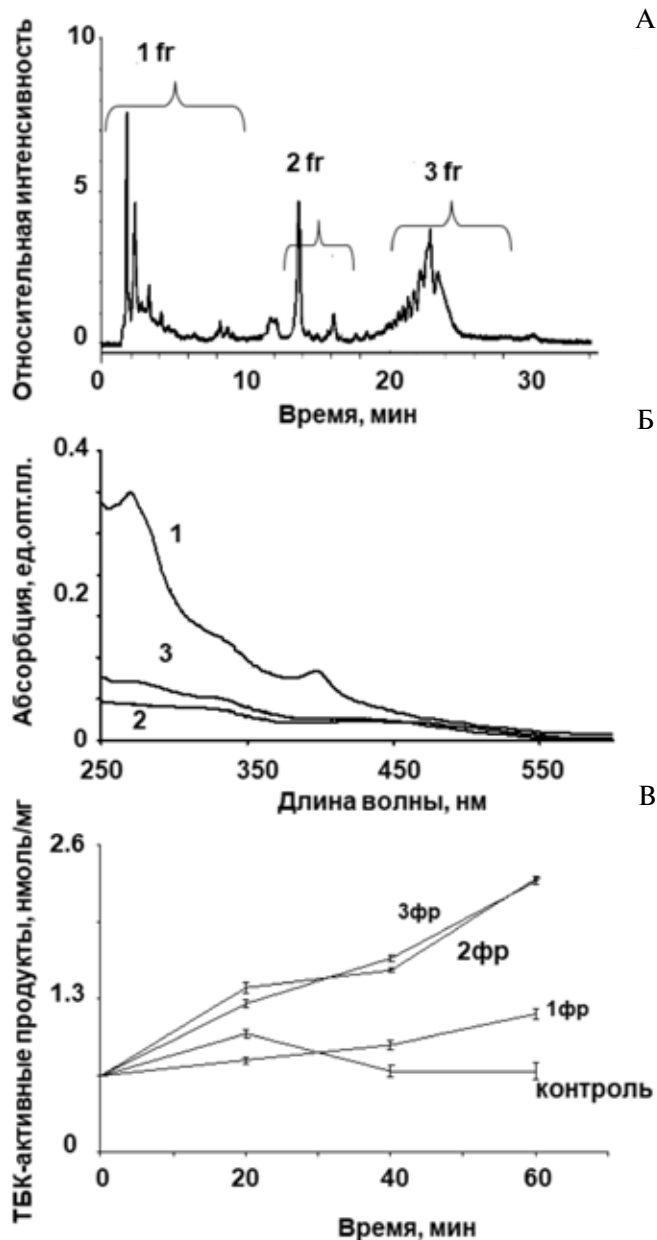


Рис. 2. Физико-химические свойства неокисленных и окисленных бисретиноидов в хлороформном экстракте ЛГ из РПЭ **кадаверных глаз человека**. А – ВЭЖХ анализ хлороформного экстракта: фракция 1 – продукты фотоокисления и фотодеградации бисретиноидов; фракция 2 – А2Е и изо-А2Е; фракция 3 – другие производные полностью-транс ретиналя (неокисленные бисретиноиды). Детектирование по поглощению на длине волны 430 нм. Б – спектры поглощения отдельных фракций, полученных при хроматографическом разделении (номера спектров соответствуют номерам фракций на хроматограмме А). В – скорость накопления ТБК-активных продуктов при освещении видимым светом суспензии НСП в присутствии отдельных фракций хлороформного экстракта, содержащих неокисленные и окисленные бисретиноиды; данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения (по трём повторам).

отметить, что сравнительный эксперимент проводили при сохранении соотношения концентрации окисленных и неокисленных бисретиноидов, полученных при хроматографическом разделении хлороформного экстракта ЛГ. Из рисунка 2В видно, что наибольший уровень образования ТБК-продуктов при фотоиндуцированной пероксидации липидов НСП наблюдается в присутствии 2-й или 3-й фракций хлороформного экстракта ЛГ, содержащих А2Е и другие неокисленные бисретиноиды. Наименьший эффект на пероксидное окисление липидов НСП оказывали продукты 1-й фракции хлороформного экстракта ЛГ.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что неокисленные бисретиноиды, как и сам А2Е, в составе ЛГ обладают более выраженными фототоксичными свойствами в отношении пероксидации липидов по сравнению с продуктами их фотоокисления и фотодеградаций.

Заключение

В данной работе было проведено сравнительное исследование фототоксичных свойств неокисленных и окисленных бисретиноидов ЛГ из РПЭ глаза человека на процесс пероксидации липидов. Показано, что продукты фотоокисления и фотодеградаций бисретиноидов ЛГ менее фототоксичны по сравнению с неокисленными формами бисретиноидов. Изменение этих характеристик, скорее всего, связано с тем, что полоса поглощения этих соединений сдвигается в УФ-область по сравнению с А2Е и другими неокисленными бисретиноидами, которые активно поглощают и в видимой области спектра. Кроме того, можно предположить, что способность окисленных продуктов генерировать АФК также снижается, так как уменьшается способность акцептировать электрон за счет уменьшения в полиеновой цепи количества двойных связей [20].

Таким образом, можно предположить, что воздействие света на флуорофоры ЛГ может приводить к ослаблению их фототоксичности. Поэтому образование окисленных бисретиноидов в течение жизни человека может быть защитным механизмом, снижающим уровень фототоксичных молекул в клетках РПЭ.

Список литературы

1. Nivison-Smith L., Milston R., Madigan M., Kalloniatis M. Age-related macular degeneration: linking clinical presentation to pathology. *Optom. Vis. Sci.* 2014; 91(8): 832-848. DOI: 10.1097/OPX.0000000000000281
2. Kennedy C.J., Rakoczy P.E., Constable I.J. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye*. 1995; 9: 763-771.
3. Feeney-Burns L., Eldred G.E. The fate of the phagosome: conversion to 'age-pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans. Ophthalmol. Soc. UK*. 1983; 103: 416-421.
4. Eldred G.E., Katz M.L. Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization. *Exp. Eye Res.* 1988; 47: 71-86.
5. Sparrow J.R., Wu Y., Kim C.Y., Zhou J. Phospholipid meets all-trans retinal: the making of RPE bisretinoids. *J. Lipid Res.* 2010; 51(2): 247-261. DOI: 10.1194/jlr.R000687
6. Eldred G.E., Lasky M.R. Retinal age pigments generated by self-assembling lysosomotropic detergents. *Nature*. 1993; 361: 724-726.

7. Boulton M., Dontsov A.E., Ostrovsky M.A., Jarvis-Evans J., Svitunenko D. Superoxide radical generation by human RPE lipofuscin: a photoinducible effect. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1992; 33(4): 919.
8. Sparrow J.R., Nakanishi K., Parish CA The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000; 41(7): 1981-1990.
9. Dillon J., Wang Z., Avall L.B., Gaillard E.R. The photochemical oxidation of A2E results in the formation of a 5,8,5',8'-bis-furanoide oxide. *Exp. Eye Res.* 2004; 79(4): 537-542. DOI: 10.1016/j.exer.2004.06.024
10. Донцов А.Е., Сакина Н.Л., Островский М.А. Сравнительное исследование темновой и светоиндуцированной токсичности липофуциновых гранул из ретиального пигментного эпителия глаза человека и их хромофора А2Е на модели кардиолипидных липосом. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2012; 2: 438-444.
11. Liu Z., Ueda K., Kim H.J., Sparrow J.R. Photobleaching and Fluorescence Recovery of RPE Bisretinoids. *PLoS One*. 2015; 10(9): e0138081. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138081>
12. Sparrow J.R., Vollmer-Snarr H.R., Zhou J., Jang Y.P., Jockusch S., Itagaki Y., Nakanishi K. A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other antioxidants inhibit A2E-epoxide formation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(20): 18207-18213. DOI: 10.1074/jbc.M300457200
13. Feldman T.B., Yakovleva M.A., Arbukhanova P.M., Borzenok S.A., Kononikhin A.S., Popov I.A., Nikolaev E.N., Ostrovsky M.A. Changes in spectral properties and composition of lipofuscin fluorophores from human retinal pigment epithelium with age and pathology. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015; 407(4): 1075-88. DOI: 10.1007/s00216-014-8353-z
14. Feldman T.B., Yakovleva M.A., Larichev A.V., Arbukhanova P.M., Radchenko A.S., Borzenok S.A., Kuzmin V.A., Ostrovsky M.A. Spectral analysis of fundus autofluorescence pattern as a tool to detect early stages of degeneration in the retina and retinal pigment epithelium. *Eye*, 2018; 32(9): 1440-1448. DOI: 10.1038/s41433-018-0109-0
15. Parish C.A., Hashimoto M., Nakanishi K., Dillon J., Sparrow J.R. Isolation and one-step preparation of A2E and iso-A2E, fluorophores from human retinal pigment epithelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1998; 95: 14609-14613.
16. Смитиенко О.А., Мозговая М.Н., Шелаев И.В., Гостев Ф.Е., Фельдман Т.Б., Надточено В.А., Саркисов О.М., Островский М.А. Фемтосекундная динамика образования первичных продуктов фотопревращения зрительного пигмента родопсина. *Биохимия*. 2010; 75(1): 34-45.
17. Buege J.A., Aust S.D. Mitochondrial lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52: 302-310.
18. Ben-Shabat S., Itagaki Y., Jockusch S., Sparrow J.R., Turro N.J., Nakanishi K. Formation of a nona-oxirane from A2E, a lipofuscin fluorophore related to macular degeneration, and evidence of singlet oxygen involvement. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2002; 41: 814-817.
19. Sparrow J.R., Wu Y., Nagasaki T., Yoon K.D., Yamamoto K., Zhou J. Fundus autofluorescence and the bisretinoids of retina. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2010; 9(11): 1480-1489. DOI: 10.1039/c0pp00207k
20. Broniec A., Pawlak A., Sarna T., Wielgus A., Roberts J.E., Land E.T., Truscott T.G., Edge R., Navaratnam S. Spectroscopic properties and reactivity of free radical forms of A2E. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 38: 1037-1046. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.12.023

References

1. Nivison-Smith L., Milston R., Madigan M., Kalloniatis M. Age-related macular degeneration: linking clinical presentation to pathology. *Optom. Vis. Sci.* 2014; 91(8): 832-848. DOI: 10.1097/OPX.0000000000000281
2. Kennedy C.J., Rakoczy P.E., Constable I.J. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye*. 1995; 9: 763-771.
3. Feeney-Burns L., Eldred G.E. The fate of the phagosome: conversion to 'age-pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans. Ophthalmol. Soc. UK*. 1983; 103: 416-421.
4. Eldred G.E., Katz M.L. Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization. *Exp. Eye Res.* 1988; 47: 71-86.

5. Sparrow J.R., Wu Y., Kim C.Y., Zhou J. Phospholipid meets all-trans retinal: the making of RPE bisretinoids. *J. Lipid Res.* 2010; 51(2): 247-261. DOI: 10.1194/jlr.R000687
6. Eldred G.E., Lasky M.R. Retinal age pigments generated by self-assembling lysosomotropic detergents. *Nature.* 1993; 361: 724-726.
7. Boulton M., Dontsov A.E., Ostrovsky M.A., Jarvis-Evans J., Svitunenko D. Superoxide radical generation by human RPE lipofuscin: a photoinducible effect. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1992; 33(4): 919.
8. Sparrow J.R., Nakanishi K., Parish CA The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000; 41(7): 1981-1990.
9. Dillon J., Wang Z., Avalle L.B., Gaillard E.R. The photochemical oxidation of A2E results in the formation of a 5,8,5',8'-bis-furano oxide. *Exp. Eye Res.* 2004; 79(4): 537-542. DOI: 10.1016/j.exer.2004.06.024
10. Dontsov A.E., Sakina N.L., Ostrovsky M.A. [A comparative study of the dark and light-induced toxicity of lipofuscin granules from the retinal pigment epithelium of a human eye and their A2E chromophore on a model of cardiolipin liposomes]. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya. [Proceedings of the Academy of Sciences. Chemical series].* 2012; 2: 438-444.
11. Liu Z., Ueda K., Kim H.J., Sparrow J.R. Photobleaching and Fluorescence Recovery of RPE Bisretinoids. *PLoS One.* 2015; 10(9): e0138081. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138081>
12. Sparrow J.R., Vollmer-Snarr H.R., Zhou J., Jang Y.P., Jockusch S., Itagaki Y., Nakanishi K. A2E-epoxides damage DNA in retinal pigment epithelial cells. Vitamin E and other antioxidants inhibit A2E-epoxide formation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(20): 18207-18213. DOI: 10.1074/jbc.M300457200
13. Feldman T.B., Yakovleva M.A., Arbukhanova P.M., Borzenok S.A., Kononikhin A.S., Popov I.A., Nikolaev E.N., Ostrovsky M.A. Changes in spectral properties and composition of lipofuscin fluorophores from human retinal pigment epithelium with age and pathology. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015; 407(4): 1075-88. DOI: 10.1007/s00216-014-8353-z
14. Feldman T.B., Yakovleva M.A., Larichev A.V., Arbukhanova P.M., Radchenko A.S., Borzenok S.A., Kuzmin V.A., Ostrovsky M.A. Spectral analysis of fundus autofluorescence pattern as a tool to detect early stages of degeneration in the retina and retinal pigment epithelium. *Eye,* 2018; 32(9): 1440-1448. DOI: 10.1038/s41433-018-0109-0
15. Parish C.A., Hashimoto M., Nakanishi K., Dillon J., Sparrow J.R. Isolation and one-step preparation of A2E and iso-A2E, fluorophores from human retinal pigment epithelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1998; 95: 14609-14613.
16. Smitienko O.A., M.N. Mozgovaya, Shelaev I.V., Gostev F.E., Feldman T.B., Nadochenko V.A., Sarkisov O.M., Ostrovsky M.A. [Femtosecond dynamics of the formation of primary products of phototransformation of the visual pigment rhodopsin]. *Biokhimiya. [Biochemistry].* 2010; 75 (1): 34-45.
17. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978; 52: 302-310.
18. Ben-Shabat S., Itagaki Y., Jockusch S., Sparrow J.R., Turro N.J., Nakanishi K. Formation of a nona-oxirane from A2E, a lipofuscin fluorophore related to macular degeneration, and evidence of singlet oxygen involvement. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2002; 41: 814-817.
19. Sparrow J.R., Wu Y., Nagasaki T., Yoon K.D., Yamamoto K., Zhou J. Fundus autofluorescence and the bisretinoids of retina. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2010; 9(11): 1480-1489. DOI: 10.1039/c0pp00207k
20. Broniec A., Pawlak A., Sarna T., Wielgus A., Roberts J.E., Land E.T., Truscott T.G., Edge R., Navaratnam S. Spectroscopic properties and reactivity of free radical forms of A2E. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 38: 1037-1046. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.12.023

Сведения об авторах:

Яковлева Марина Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических основ рецепции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля» Российской академии наук

Сакина Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических основ рецепции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля» Российской академии наук

Кольчугина Ирина Борисовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры молекулярной физиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Арбуханова Патимат Магомедовна – научный сотрудник Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Борзенко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, заведующий центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фельдман Татьяна Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических основ рецепции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля» Российской академии наук; доцент кафедры молекулярной физиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Островский Михаил Аркадьевич – доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией физико-химических основ рецепции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М.Эмануэля» Российской академии наук; заведующий кафедрой молекулярной физиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

УДК 616-092

Ассоциация полиморфных маркеров генов XRCC1, ERCC2 и CDKN1A с длительностью времени без прогрессирования рака яичников после химиотерапии производными платины и таксанами

Заварыкина Т.М.¹, Тюляндина А.С.², Логинов В.И.^{3,4}, Бурдённый А.М.^{1,3},
Аткарская М.В.¹, Бреннер П.К.⁵, Капралова М.А.⁵, Стенина М.Б.²

- ¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук. 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4
- ² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 115478, Москва, Каширское ш., д. 23
- ³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8
- ⁴ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр». 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1
- ⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина». 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23

Актуальность. Для современной клинической онкологии одной из важнейших целей является развитие персонализированного подхода в лечении онкологических пациентов. Это связано с высоким уровнем токсичности химиотерапевтических лекарственных средств. Ключевыми препаратами, используемыми в схемах химиотерапии при раке яичников, являются производные платины, сочетающие высокую эффективность и столь же высокую токсичность. Это делает актуальным поиск маркеров чувствительности к данной группе препаратов.

Целью данной работы было изучение статуса полиморфных маркеров генов XRCC1, ERCC2 и CDKN1A и их связи с длительностью времени без прогрессирования (ВБП), которое является суррогатным клиническим маркером чувствительности к производным платины при раке яичника.

Материалы и методы. В исследование были включены 26 больных распространенным раком яичника (II-IV стадии), у которых до начала химиотерапии, при первичной циторедуктивной операции, был произведен забор образцов опухолевой ткани. После операции все больные получили стандартную химиотерапию с использованием паклитаксела и препаратов платины. Из образцов опухолевой ткани выделяли ДНК с помощью набора Diatom DNA Prep 400 (Россия). Определение статуса полиморфных маркеров Gln399Arg гена XRCC1, Lys751Gln гена ERCC2 и Ser31Arg гена CDKN1A проводили методом ПЦР-ПДРФ и подтверждением результата методом ПЦР в реальном времени с последующим анализом кривых плавления продукта ПЦР. Статус маркеров был сопоставлен с длительностью ВБП.

Результаты. Нами выявлена тенденция к большей продолжительности ВБП при наличии аллеля Gln маркера Gln399Arg гена XRCC1 (медиана ВБП составляла 14,1 мес. у больных с наличием аллеля Gln в сравнении с 10,9 мес. в подгруппе больных с отсутствием аллеля Gln, $p = 0,095$). В подгруппе больных, которым была проведена оптимальная циторедуктивная операция, носительство минорного аллеля Arg маркера Ser31Arg гена CDKN1A ассоциировалось с уменьшением медианы ВБП (19,1 и 12,8 мес. при отсутствии и наличии аллеля Arg соответственно, $p = 0,035$).

Вывод. Выявлена взаимосвязь статуса полиморфных маркеров генов XRCC1 и CDKN1A с длительностью ремиссии после платиносодержащей химиотерапии рака яичника, что делает целесообразным дальнейшее изучение данных молекулярно-генетических факторов на более репрезентативной группе больных раком яичника.

Ключевые слова: рак яичника; полиморфный маркер; гены репарации; контроль клеточного цикла.

Для цитирования: Заварыкина Т.М., Тюляндина А.С., Логинов В.И., Бурдённый А.М., Аткарская М.В., Бреннер П.К., Капралова М.А., Стенина М.Б. Ассоциация полиморфных маркеров генов XRCC1, ERCC2 и CDKN1A с длительностью времени без прогрессирования рака яичников после химиотерапии производными платины и таксанами. Патогенез. 2019; 17(1): 72-81

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.72-81

Для корреспонденции: Заварыкина Татьяна Михайловна, e-mail: tpalievskaya@yandex.ru

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-08-01258.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 25.09.2018

Association of polymorphic markers of XRCC1, ERCC2, CDKN1A genes with progression free survival of ovarian cancer patients after platinum/taxanes-based chemotherapy

Zavarykina T.M.¹, Tyulyandina A.S.², Loginov V.I.^{3,4}, Burdenny A.M.^{1,3}, Atkarskaya M.V.¹, Brenner P.K.⁵, Kapralova M.A.⁵, Stenina M.B.²

¹ N.M. Emanuel Institute for Biochemical Physics, Kosygina Str. 4, Moscow 119334, Russian Federation

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Kashirskoe Shosse 23, Moscow 115478, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

⁴ Medical Genetics Research Center, Moskvorech'ye Str. 1, Moscow 115478, Russian Federation

⁵ K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Akademika Skryabina Str. 23, Moscow 109472, Russian Federation

Background: The most important goal of current clinical oncology is personalized treatment primarily due to high toxicity of chemotherapeutic drugs. The key drugs used in chemotherapy of ovarian cancer are platinum derivatives, which are both highly effective and highly toxic. Therefore, searching for sensitivity markers for this group of drugs is very relevant. **The aim** of this work was to study polymorphic markers of XRCC1 and ERCC2 DNA repair genes and the cell cycle regulation gene, CDKN1A, and their relationship with progression-free survival time (PFS), which is a surrogate clinical marker for sensitivity of ovarian cancer to platinum drugs. **Materials and methods.** The study included 26 patients with advanced ovarian cancer (stage II-IV). Tumor samples were withdrawn from patients before the onset of chemotherapy, during the primary cytoreductive surgery. After surgery, all patients received a standard chemotherapy with paclitaxel and platinum drugs. DNA was isolated from tumor tissue samples using a Diatom DNA Prep 400 kit (Isogen, Russia). The polymorphic markers, Gln399Arg of the XRCC1 gene, Lys751Gln of the ERCC2 gene, and Ser31Arg of the CDKN1A gene were analyzed by PCR-RFLP and real-time PCR melting curves analysis as a reference. The marker status was compared with the duration of PFS. **Results.** A tendency towards longer duration of PFS was observed in the presence of the Gln allele of Gln399Arg XRCC1 marker (median PFS, 14.1 months in patients with the Gln allele vs. 10.9 months in the subgroup without the Gln allele; $p = 0.095$). In the subgroup with optimal cytoreductive surgery, carrying the minor Arg allele of the CDKN1A gene Ser31Arg marker was associated with duration of PFS. In the presence of the minor Arg allele, the PFS duration after platinum-containing chemotherapy was statistically significantly decreased (median PFS, 19.08 months in the absence of Arg allele vs. 12.82 months in the presence of Arg allele, $p = 0.035$). **Conclusion.** Polymorphic markers of XRCC1 and CDKN1A genes were found to be related with remission duration after platinum-containing chemotherapy of ovarian cancer. This suggests advisability of further studies of these molecular genetic factors on a representative group of patients with ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer; polymorphic marker; genes of DNA reparation; cell cycle control.

For citation: Zavarykina T.M., Tyulyandina A.S., Loginov V.I., Burdenny A.M., Atkarskaya M.V., Brenner P.K., Kapralova M.A., Stenina M.B. [Association of polymorphic markers of XRCC1, ERCC2, CDKN1A genes with progression free survival of ovarian cancer patients after platinum/taxanes-based chemotherapy]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 72-81 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.72-81

For correspondence: Zavarykina Tatiana Mikhailovna, e-mail: tpalievskaya@yandex.ru

Funding. The study was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research № 18-08-01258.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 25.09.2018

Введение

Рак яичников (РЯ) занимает 4-е место среди онкологических заболеваний у женщин и 7-е место в структуре общей онкологической заболеваемости, насчитывая, согласно базе данных GLOBOCAN, около 295 000 новых случаев и более 184 000 смертей в мире в 2018 г. [1]. Для этого заболевания характерна высокая частота рецидивов и низкая выживаемость больных: 5-летняя общая выживаемость при РЯ составляет около 30% [2]. В структуре заболеваемости всеми злокачественными новообразованиями женского населения в России РЯ занимает 9-е место, и 7-е место по смертности [3]. РЯ является одним из наиболее частых заболеваний в онкогинекологии, он занимает 2-е место по заболеваемости и 1-е место по смертности [4].

РЯ относится к числу высокочувствительных к химиотерапии (ХТ) опухолей. При выполнении циторедуктивной операции в оптимальном объеме с последующей индукционной ХТ у больных III-IV

стадий удается достичь полной регрессии опухоли с нормализацией маркера СА-125. Однако отдаленные результаты лечения этой категории больных по-прежнему остаются неудовлетворительными: 5-летняя выживаемость больных раком яичников III стадии составляет всего 20-25%, а при IV стадии не превышает 10%.

Одним из наиболее эффективных режимов ХТ первой линии при РЯ являются комбинации на основе производных платины (цис- или карбоплатина) в сочетании с паклитакселом, обладающие эффективностью 72-77% и обеспечивающие продолжительность жизни, равную 35-38 мес., однако у небольшой части пациентов имеется исходная резистентность опухоли к производным платины. В связи с этим представляется актуальным поиск маркеров первичной платинорезистентности РЯ.

Изучение связи молекулярно-генетических особенностей опухоли с ответом на платиносодержащую ХТ основывается на механизме ее действия. Под вли-

янием препаратов платины возникают двунитевые разрывы молекулы ДНК. Репарация двунитевых разрывов ДНК происходит по механизму гомологичной рекомбинации [5]. В результате дефицита гомологичной рекомбинации в опухолевых клетках, они становятся чрезвычайно чувствительными к препаратам, повреждающим ДНК. В исследованиях, посвященных раку молочной железы, показано, что нарушение функционирования гена *BRCA1*, отвечающего за репарацию ДНК, ассоциируется с высокой чувствительностью опухоли к повреждающим ДНК препаратам, в частности, к платиносодержащим режимам ХТ [6-9]. В литературе имеются данные о связи носительства мутаций в генах *BRCA1/2* с рядом клинических характеристик течения РЯ [10-13], однако исследование только двух генов среди большого их числа в системе репарации ДНК не может дать полного представления о влиянии состояния репарационной системы клетки на эффективность платиносодержащей неоадьювантной ХТ при РЯ. Для получения максимально объективного представления об эффективности платиносодержащей ХТ необходим поиск новых маркеров. В Национальном институте рака в Италии было проведено крупное мета-исследование, посвященное отбору предиктивных фармакогенетических маркеров платиночувствительности при различных видах рака [14]. В результате были отобраны два наиболее значимых маркера генов репарации ДНК *ERCC2* (*Lys 751Gln*) и *XRCC1* (*Gln399Arg*), связанных с эффективностью ХТ препаратами платины. В обзорной статье N.Vella [15] также рассматривается ряд однонуклеотидных полиморфных маркеров, влияющих на эффективность терапии при РЯ. В работе отмечается, что носительство хотя бы одного минорного аллеля маркеров *Asp312Asn* или *Lys 751Gln* гена *ERCC2* статистически значимо снижает риск смерти пациента. Исследование маркера *Asp312Asn* гена *ERCC2* выявило, что носители гомозиготы *Asp/Asp* имеют большую выживаемость без прогрессирования (ВБП) по сравнению с носителями минорного аллеля

Asn ($HR = 0,71, p = 0,003$) [15]. Кроме того, важная роль системы репарации ДНК подтвердилась при исследовании экспрессии белка системы эксцизионной репарации *ERCC1* у больных РЯ. В группе пациенток с низким уровнем экспрессии этого белка медиана ВБП не была достигнута, тогда как при высоком уровне *ERCC1* в опухоли медиана данного показателя составила 9 мес. ($p = 0,0008$) [16]. В исследовании на культурах клеток РЯ выявлено, что репарация аддуктов ДНК с препаратами платины происходит при активации генов *ERCC2*, *XRCC1* и *ERCC1* [17].

Важное влияние на запуск процессов репарации в клетке также оказывает р53-зависимая система контроля клеточного цикла, ключевым звеном которой является ген *CDKN1A* и кодируемый им белок p21. Кроме того, это – основной путь апоптоза, который активируется при попадании в клетку цитотоксичных агентов, в частности препаратов платины. При исследовании генов *TP53* (*Arg72Pro*) и *CDKN1A* (маркер 3'UTR) (гена белка p21) была выявлена корреляция между отсутствием предрасполагающих аллелей маркеров этих генов и значительным увеличением ВБП ($p = 0,020$) [18].

Целью данной работы являлось изучение связи полиморфных маркеров генов *ERCC2*, *XRCC1* и *CDKN1A* при РЯ с длительностью ВБП после платиносодержащей ХТ.

Материалы и методы исследования

Работа проведена в отделении клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. В исследование включались больные РЯ II-IV стадий, не имеющие серьезных сопутствующих заболеваний и не получавшие ранее ХТ. Критериями включения в исследование были возраст 18-70 лет, удовлетворительное общее состояние, нормальная функция кроветворения, почек, печени, морфологически подтвержденный диагноз РЯ. С 2015 по 2018 гг. в исследование в общей сложности были включены 26 больных. Клинико-морфологическая характеристика больных представлена в табл. 1.

На первом этапе у всех больных было выполнено хирургическое вмешательство, во время которого производился забор опухолевой ткани. В послеоперационном периоде все больные получили 6 курсов стандартной платиносодержащей ХТ по схеме карбоплатин АУС6 или цисплатин 75 мг/м² + паклитаксел 175 мг/м² каждые 3 недели. После завершения ХТ больные наблюдались с периодичностью 1 раз в 3 мес. для оценки времени без прогрессирования. В процессе наблюдения каждые 3 мес. производился осмотр, выяснение жалоб, УЗИ органов брюшной полости и малого таза и определение маркера СА 125; по показаниям выполнялись КТ или МРТ органов брюшной полости и малого таза.

ДНК из образцов опухолевой ткани выделяли с помощью набора Diatom DNA Prep 400 (Изоген, Россия). Анализ полиморфных маркеров в образцах тканей опухоли проводился параллельно двумя раз-

Таблица 1.

Характеристика больных РЯ, включенных в исследование.

Показатель	Значение n, (%)
Возраст, медиана (минимум-максимум)	54 (41-72) года
Стадия:	
II	5 из 26 (19,2%)
III	16 из 26 (61,5%)
IV	5 из 26 (19,2%)
Гистологическая характеристика опухоли:	
серозный рак	21 из 26 (80,8%)
светлоклеточный рак	2 из 26 (7,7%)
эндометриоидный рак	3 из 26 (11,5%)
Объем хирургического вмешательства:	
оптимальная циторедукция	8 из 26 (30,8%)
неоптимальная циторедукция	18 из 26 (69,2%)
Время наблюдения (медиана):	15,7 мес.
минимальное	6,5 мес.
максимальное	33,5 мес.

личными методиками для исключения возможных ошибок метода.

Были определены полиморфные маркеры *Gln399Arg XRCC1*, *Lys751Gln ERCC2* и *Ser31Arg CDKN1A* в опухолевой ткани. Анализ генотипов полиморфных маркеров исследованных генов проводился с помощью метода ПЦР-ПДРФ – анализ с использованием эндонуклеаз рестрикции производства Сибэнзим (Россия) и набора реактивов «PCRMix-HS» (Евроген, Россия). Для верификации исследования параллельно была использована ПЦР в реальном времени с последующим анализом кривых плавления продукта ПЦР на амплификаторе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) с использованием набора qPCRMix-HS SYBR (Евроген, Россия) (рис. 1). Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения ПЦР приведены в табл. 2. Резуль-

таты определения маркеров различными методами были сопоставлены между собой и с клиническими данными (ВБП).

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ Statistica 6.0. Сравнение кривых времени до прогрессирования в зависимости от изученных маркеров проводилось с помощью метода Каплана-Мейера с использованием лонг-ранг теста (long-rank test).

Результаты исследования

Были изучены полиморфные маркеры генов репарации ДНК (*XRCC1*, *ERCC2*) и гена регуляции клеточного цикла *CDKN1A*. Результаты анализа маркеров, полученные в ходе работы, были сопоставлены с длительностью ВБП для выявления связи каждого маркера с ответом опухоли на химиотерапию.

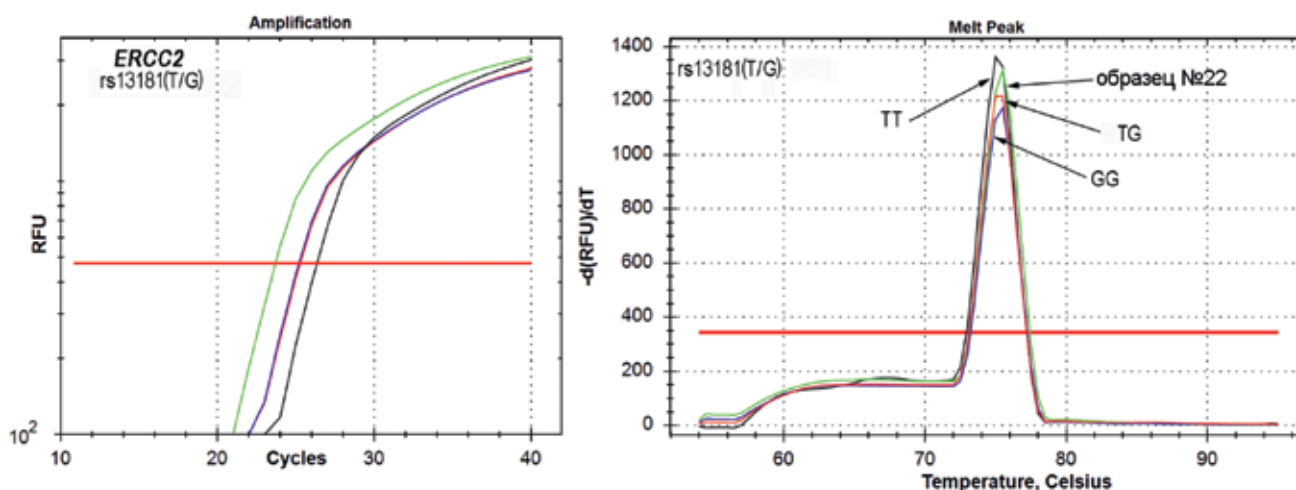


Рис. 1. Анализ генотипа полиморфного маркера методом ПЦР в реальном времени с последующим анализом кривых плавления продукта ПЦР на примере маркера *Lys751Gln ERCC2* и образца № 22.

Таблица 2.

Условия проведения анализа полиморфных маркеров.

ПЦР в реальном времени				
Маркер	Праймеры	$T_{отж}, ^\circ C$		
<i>Gln399Arg XRCC1</i>	F: cttgcccctcagatcacacctaact R: tctggctgggaccacctgtgttc	60		
<i>Lys751Gln ERCC2</i>	F: ctctgttctctgcaggagatcagc R: actcaggagtcaccaggaaccgttta	60		
<i>Ser31Arg CDKN1A</i>	F: gtcagaaccggctgggatg R: ctctcccaactcatcccgg	60		
ПЦР-ПДРФ				
Маркер	Праймеры	$T_{отж}, ^\circ C$	Длина продукта, п.н.	Эндонуклеаза рестрикции
<i>Gln399Arg XRCC1</i>	F: tgccccgctcctctcagtagtct R: tctctgtctgtctccccctgtctcgt	60	342	<i>MspI</i>
<i>Lys751Gln ERCC2</i>	F: cctgcgattaaaggctgtggac R: ggatggcccgcctcggattat	60	386	<i>PstI</i>
<i>Ser31Arg CDKN1A</i>	F: gtcagaaccggctgggatg R: ctctcccaactcatcccgg	60	272	<i>Bsp1720I</i>

Из 26 больных, включенных в анализ, у 20 больных было выявлено наличие аллеля *Gln* полиморфного маркера *Gln399Arg XRCC1*, что имело тенденцию к связи с бóльшим значением медианы ВБП (14,1 мес. – у больных с наличием аллеля *Gln* в сравнении с 10,9 мес. в подгруппе больных с отсутствием аллеля *Gln*; $p = 0,09$; long-rank test) (рис. 2, А). Та же закономерность выявлена при рассмотрении генотипов данного маркера и их связи с ВБП (рис. 2, Б). Медианы ВБП для генотипов с аллелем *Gln* (*Gln/Gln*, *Gln/Arg*) не отличаются от медианы ВБП генотипа *Arg/Arg*, $p=0,088$ (*Arg/Arg* = 10,9 мес.; *Gln/Arg* = 16,5 мес.; *Gln/Gln* = 15,0 мес.).

Носительство аллеля *Gln* маркера *Lys751Gln ERCC2* было выявлено у 16 из 26 больных и ассоциировалось с тенденцией к сокращению медианы ВБП по сравнению с больными, в опухолевой ткани которых этот аллель отсутствовал (14,1 и 17,0 мес. соответственно, $p = 0,52$, long-rank test), однако различия не достигли статистической значимости. Такая же закономерность прослеживалась при анализе связи длительности ВБП с генотипами. Медиана ВБП для генотипа *Gln/Gln* составила 12,8 мес., тогда как для двух других генотипов – 15,4 мес. (*Lys/Lys*) и 14,1 мес. (*Lys/Gln*), однако статистической значимости эти различия не достигли, $p = 0,588$.

Носительство аллеля *Arg* маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A* в образцах опухолевой ткани было выявлено у 7 из 26 больных, при этом существенных различий в медианах ВБП по сравнению с больными, в опухолевой ткани которых этот аллель отсутствовал, не наблюдалось (15,4 и 13,8 мес. соответственно, $p = 0,778$; long-rank test). При анализе связи генотипов маркера с длительностью ВБП в опухолевой ткани обнаружена тенденция к увеличению медианы ВБП у но-

сителей генотипа *Arg/Arg* (17,2 мес.) по сравнению с двумя другими генотипами (*Ser/Ser* = 13,8мес.; *Ser/Arg* = 12,8 мес.), различия не достигли статистической значимости ($p = 0,81$).

Известно, что одним из важнейших прогностических факторов возникновения рецидива при РЯ является объем хирургического лечения. В связи с этим было проведено изучение влияния на ВБП каждого исследованного маркера в зависимости от объема хирургического лечения (оптимальный или неоптимальный). В подгруппе больных, которым была выполнена циторедуктивная операция оптимального объема, носительство аллеля *Arg* маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A* ассоциировалось с уменьшением медианы ВБП, различия достигли статистической значимости ($(Arg-)$ = 19,1 мес., $(Arg+)$ = 12,8 мес., $p = 0,04$) (рис. 3, А). При неоптимальной циторедуктивной операции различия в медианах ВБП не достигли статистической значимости ($(Arg-)$ = 11,3 мес., $(Arg+)$ = 15,6 мес., $p = 0,25$) (рис. 3, Б).

Влияние маркера *Gln399Arg XRCC1* в подгруппах с различным объемом хирургического лечения оценить не удалось в связи с малым количеством больных в подгруппах. У двух носителей генотипа *Gln/Gln* рецидив РЯ зафиксирован не был, тогда как при наличии аллеля *Arg* рецидив был зафиксирован у 2 из 6 больных; $p = 0,36$. В подгруппе больных, которым была проведена неоптимальная циторедуктивная операция, закономерность наблюдалась такая же, как для общей группы больных: наличие аллеля *Gln* ассоциировалось с увеличением медианы ВБП, однако различия не достигли статистической значимости ($(Gln+)$ = 15,6мес., $(Gln-)$ = 10,9мес. $p = 0,30$). Для маркера *Lys751Gln* гена *ERCC2* влияния на ВБП в зависимости от объема хирургического вмешательства выявлено не было.

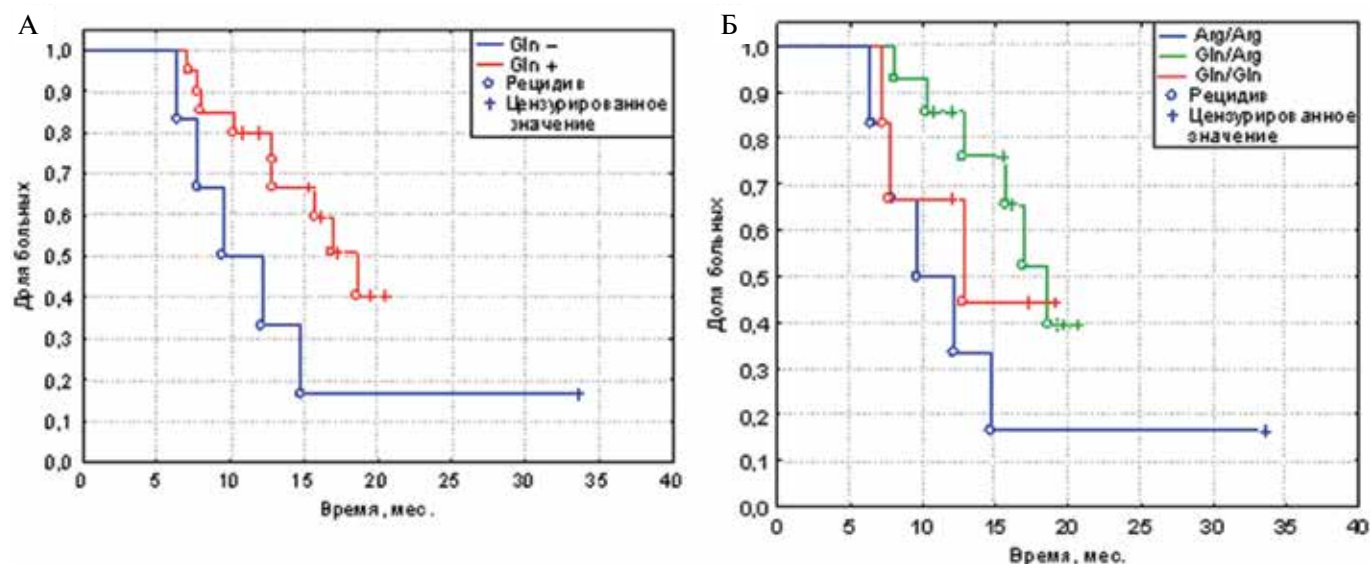


Рис. 2. ВБП в зависимости от статуса маркера *Gln399Arg* гена *XRCC1*: А – носительство аллеля *Gln*; Б – носительство генотипов маркера *Gln399Arg XRCC1*.

Обсуждение

Большая часть повреждений ДНК восстанавливается системой BER (base excision repair) – эксцизионной репарацией ДНК. В системе эксцизионной репарации ДНК ген *XRCC1* (X-ray repair cross complementing protein 1) кодирует один из важнейших ферментов, который активен в отношении поврежденных оснований и однопочечных разрывов ДНК, вызванных алкилирующими агентами и ионизирующей радиацией, а также играет ключевую роль во всей системе BER. Данный ген расположен на хромосоме 19q13.2–13.3 и имеет несколько полиморфных маркеров. Среди них один из наиболее распространенных – маркер *Gln399Arg*, расположенный в функционально важном домене белка и обладающий наибольшим влиянием на его функцию. Он связан с заменой *A* на *G* в позиции 1316 (399 кодоне). Это приводит к изменению аминокислотного состава кодируемого белка в 399 позиции, замене глутамина (*Gln*) на аргинин (*Arg*). Таким образом, изменяется конформация белка *XRCC1* и снижается сродство к многокомпонентному белковому комплексу, участвующему в процессе репарации, и, как следствие, уменьшается активность координатора эксцизионной репарации и скорость сборки всего комплекса. При этом показано уменьшение активности фермента, что приводит к нарушениям в системе BER репарации ДНК [19].

В нашем исследовании генотип *Gln/Gln* ассоциировался с тенденцией к увеличению медианы ВБП ($p = 0,09$), что отражает более высокую эффективность ХТ с использованием препаратов платины. При немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) для исследованного нами маркера *Gln399Arg XRCC1*

были получены сходные закономерности при изучении ответа на ХТ по показателю общей выживаемости, ВБП и риска смерти. Выявлено, что генотип *Gln/Gln* ассоциируется с большей продолжительностью жизни и меньшим риском смерти от НМРЛ (HR = 0,42, 95% CI 0,21–0,82) [20]. В исследовании с участием больных неоперабельным НМРЛ выявлено статистически значимое снижение риска смерти у носителей генотипов *Arg/Gln* и *Gln/Gln* по сравнению с генотипом *Arg/Arg* (HR 0,67, 95% CI 0,47–0,96, $p = 0,030$) [21]. В другой работе была обнаружена ассоциация генотипа *Gln/Gln (A/A)* с лучшими показателями ВБП и общей выживаемости (HR = 0,61 и 0,55, соответственно) у больных НМРЛ [22]. Мета-анализ, проведенный по 17 публикациям, посвященным данному полиморфному маркеру, показал, что больные с генотипом *Gln/Gln (A/A)* имеют лучшие показатели общей выживаемости при проведении платиносодержащей ХТ по (HR = 1,69, 95% CI 1,12–2,64, $p < 0,05$) [23]. В литературе описаны работы по исследованию связи маркера *Gln399Arg XRCC1* с ответом на ХТ при РЯ, однако они проведены с участием азиатской популяции больных (в Китае) [24–27]. Кроме того, в этих работах основным клиническим параметром, по которому оценивалась эффективность ХТ, являлась общая выживаемость, которая определяется не только эффективностью лечения, но и биологическими особенностями опухоли. Результаты этих исследований неоднозначны, часть из них говорит об отсутствии связи данного маркера с общей выживаемостью, в других работах была обнаружена такая связь. Однако, известно, что ряд полиморфных маркеров существенно различаются по своим проявлениям в азиатской и европейской популяциях, часто диаметрально противополо-

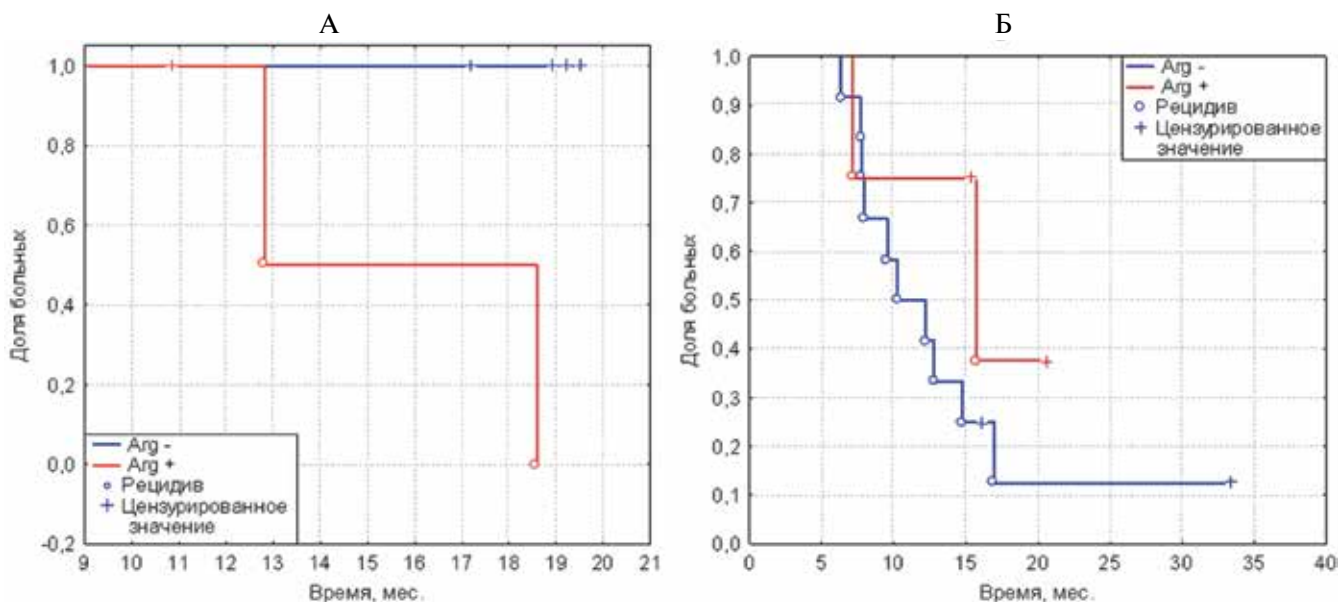


Рис. 3. ВБП в зависимости от статуса маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A*. А – при оптимальной циторедуктивной операции. Б – при неоптимальной циторедуктивной операции.

ложно. В частности, в мета-анализе J. Asis и соавт. (2017) обнаружена связь двух маркеров гена *ERCC2* с повышением риска смерти для азиатской популяции, тогда как для европейской популяции наблюдалось снижение риска смерти для обоих маркеров этого гена [28]. Наши результаты подтверждают это наблюдение.

Ген *ERCC2* (Excision repair cross-complementing rodent repair group 2), или *XPD*, входит в систему эксцизионной репарации нуклеотидов (NER, nucleotide excision repair). Эта репаративная система уникальна тем, что способна репарировать структурно и химически различные субстраты, такие как последствия воздействия алкилирующих агентов, цисплатин-гуаниновые аддукты, формирующиеся в процессе ХТ препаратами платины и повреждения, вызванные ионизирующим излучением. Ген *ERCC2* играет ключевую роль в данной системе репарации ДНК. Он расположен на хромосоме 19q13.2-13.3. В 23 экзоне гена существует замена Т→G в 2251 положении (751 кодон), которая ведет к замене лизина (*Lys*) на глутамин (*Gln*) в белковом продукте. Известно, что минорные варианты полиморфного маркера *ERCC2 Lys751Gln* ассоциированы со снижением репаративной активности и увеличением чувствительности к канцерогенам [29].

В нашей работе показано уменьшение медианы ВБП у больных с наличием аллеля *Gln* (14,1 в сравнении с 17,0 мес. в подгруппе больных с отсутствием аллеля *Gln*, различия не достигли статистической значимости ($p = 0,52$), что, возможно, связано с малым количеством больных в исследовании. В работе A.V. Khrunov и соавт, посвященной изучению полиморфных маркеров *Asp312Asn* и *Lys751Gln* гена *ERCC2* у больных РЯ, было выявлено, что пациенты, имеющие гетерозиготный генотип данных маркеров (*312Asp/Asn* или *751Lys/Gln*, соответственно) имеют достоверно большее значение ВБП по сравнению с носителями генотипов *312Asp/Asp* или *751Lys/Lys* ($p = 0,027$ и $p = 0,017$, соответственно) [30]. В работе S. Lambrechts выявлено, что носители генотипа *Gln/Gln* маркера *Asp312Asn* данного гена имеют больший бесплатиновый интервал (ВБП), $p = 0,016$ [31]. При проведении мета-анализа выявлено снижение риска смерти для носителей аллеля *Gln* маркера *Lys751Gln* гена *ERCC2* в европейской популяции (aHR = 0,10) [28].

Важным моментом в функционировании клетки является контроль состояния ДНК в сверхочных точках при прохождении клеточного цикла, большая часть которого осуществляется p53-зависимым путем. Одна из основных мишеней действия белка p53 – белок p21, который кодируется геном *CDKN1A* (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A). Этот ген находится у человека на 6 хромосоме (6p21.2). Белок p21 – это универсальный ингибитор всех ключевых регуляторов клеточного цикла – циклин-зависимых киназ. Комплекс белка p53 с геном *CDKN1A* индуцирует его транскрипцию и опосредованный G₁/S арест клеточного цикла, играя критическую роль в

клеточном ответе на повреждение ДНК. Таким образом, он блокирует репликацию ДНК, отвечая за p53-зависимую остановку клеточного цикла. Полиморфный маркер *Ser31Arg* характеризуется заменой С→А, которая приводит к замене аминокислоты серин (*Ser*) на аргинин (*Arg*) в 31 кодоне белкового продукта. Показано, что носительство хотя бы одного аллеля *Arg* приводит к снижению экспрессии мРНК гена *CDKN1A* на 38% [32].

В нашей работе обнаружена тенденция к увеличению медианы ВБП у носителей генотипа *Arg/Arg* (17,2 мес.) по сравнению с двумя другими генотипами (*Ser/Ser* = 13,8 мес.; *Ser/Arg* = 12,8 мес.), различия не достигли статистической значимости ($p = 0,81$), что, вероятно, связано с небольшим количеством больных в сравниваемых группах. В работе A.M. Santos и соавт. по исследованию генов *CDKN1A* (маркер 3'UTR) и *TP53 (Arg72Pro)* у больных НМРЛ было выявлено влияние данного гена на ВБП: отсутствие минорных аллелей маркеров этих генов ассоциировалось со значительным увеличением данного показателя ($p = 0,02$) [18].

При изучении связи маркера *Ser31Arg* гена *CDKN1A* с ВБП в зависимости от объема хирургического лечения (оптимальный или неоптимальный) нами были впервые выявлены статистически значимые различия в немногочисленной группе больных. В подгруппе оптимальной циторедуктивной операции значение медианы ВБП достоверно уменьшалось при носительстве аллеля *Arg* ($p = 0,04$). При неоптимальной циторедуктивной операции влияние остаточной опухоли, вероятно, превалировало над вкладом полиморфного маркера, и различия в медианах ВБП не достигали статистической значимости. При анализе литературы не было обнаружено подобных работ, посвященных исследованию связи маркера *Ser31Arg* с эффективностью терапии РЯ в зависимости от объема хирургического лечения.

Таким образом, в нашем исследовании наличие аллеля *Gln* гена *XRCC1* ассоциировалось с тенденцией к большей продолжительности ВБП; носительство аллеля *Arg* гена *CDKN1A* в случае выполнения оптимальной циторедуктивной операции ассоциировалось с уменьшением продолжительности ВБП после платиносодержащей ХТ. В отечественной литературе мы не нашли данных, касающихся изучения связи этих маркеров с эффективностью платиносодержащей терапии при РЯ. Это обосновывает целесообразность дальнейшего изучения данных показателей на репрезентативной группе больных.

Заключение

В проведенном исследовании выявлена взаимосвязь статуса полиморфных маркеров генов *XRCC1* и *CDKN1A* с длительностью ремиссии после платиносодержащей химиотерапии рака яичника, что делает целесообразным дальнейшее изучение данных молекулярно-генетических факторов на более репрезентативной группе больных раком яичника.

Список литературы

- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492
- Cho K.R., Shih Ie.M. Ovarian cancer. *Annu. Rev. Pathol.* 2009; 4: 287-313. DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092246
- Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с.
- Siegel K., Naishadham D., Jemal. A. Cancer statics, 2013. *CA Cancer J. Clin.* 2013; 63: 11-30. DOI: 10.3322/caac.21166
- Paul A., Paul S. The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. *Front. Biosci. (Landmark Ed)*. 2014; 19: 605-618. DOI: 10.2741/4230
- Silver D.P., Richardson A.L., Eklund A.C., Wang Z.C., Szallasi Z., Li Q., Juul N., Leong C.O., Calogrias D., Buraimoh A., Fatima A., Gelman R.S., Ryan P.D., Tung N.M., De Nicolo A., Ganesan S., Miron A., Colin C., Sgroi D.C., Ellisen L.W., Winer E.P., Garber J.E. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(7): 1145-1153. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4725
- Byrski T., Huzarski T., Dent R., Gronwald J., Zuziak D., Cybulski C., Klady J., Gorski B., Lubinski J., Narod S.A. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115(2): 359-363. DOI: 10.1007/s10549-008-0128-9
- Moiseyenko V.M., Dolmatov G.D., Moiseyenko F.V., Ivantsov A.O., Volkov N.M., Chubenko V.A., Abduloeva N.Kh, Bogdanov A.A., Sokolenko A.P., Imyanitov E.N. High efficacy of cisplatin neoadjuvant therapy in a prospective series of patients carrying BRCA1 germ-line mutation. *Med. Oncol.* 2015; 32(4): 89. DOI: 10.1007/s12032-015-0514-1
- Hollis R.L., Churchman M., Gourley C. Distinct implications of different BRCA mutations: efficacy of cytotoxic chemotherapy, PARP inhibition and clinical outcome in ovarian cancer. *Oncotargets Ther.* 2017; 10: 2539-2551. doi: 10.2147/OTT.S102569
- Dann R.B., DeLoia J.A., Timms K.M., Zorn K.K., Potter J., Flake D.D. 2nd, Lanchbury J.S., Krivak T.C. BRCA1/2 mutations and expression: response to platinum chemotherapy in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 2012. 125(3): 677-682. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.03.006
- Gorodnova T.V., Sokolenko A.P., Ivantsov A.O., Iyevleva A.G., Suspitsin E.N., Aleksakhina S.N., Yanus G.A., Togo A.V., Maximov S.Y., Imyanitov E.N. High response rates to neoadjuvant platinum-based therapy in ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA mutation. *Cancer Lett.* 2015; 369(2): 363-367. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.08.028
- Biglia N., Sgandurra P., Bounous V.E., Maggiorotto F., Piva E., Pivetta E., Ponzone R., Pasini B. Ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers: analysis of prognostic factors and survival. *Ecanmedicalscience.* 2016; 10: 639. DOI: 10.3332/ecancer.2016.639
- Suspitsin E.N., Sherina N.Y., Ponomariova D.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Gorodnova T.V., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Togo A.V., Tkachenko N.N., Shiyonov G.A., Lobeiko O.S., Krylova N.Y., Matsko D.E., Maximov S.Y., Urmancheyeva A.F., Porhanova N.V., Imyanitov E.N. High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients. *Hered. Cancer Clin. Pract.* 2009; 7(1): 5. DOI: 10.1186/1897-4287-7-5
- Di Francia R., De Lucia L., Di Paolo M., Di Martino S., Del Pup L., De Monaco A., Lleshi A., Berretta M. Rational selection of predictive pharmacogenomics test for the Fluoropyrimidine/Oxaliplatin based therapy. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sc.* 2015; 19(22): 4443-4454.
- Vella N., Aiello M., Russo A.E., Scalisi A., Spandidos D.A., Toffoli G., Sorio R., Libra M., Stivala F. "Genetic profiling" and ovarian cancer therapy (review). *Mol. Med. Rep.* 2011; 4(5): 771-777. DOI: 10.3892/mmr.2011.512
- Богуш Т.А., Стенина М.Б., Богуш Е.А., Заркуа В.Т., Калужный С.А., Мамичев И.А., Тюлядина А.С., Тюлядин С.А. Количественные показатели экспрессии ERCC1 в ткани серозного рака яичников и эффективность I линии химиотерапии с включением препаратов платины. *Антибиотики и химиотерапия.* 2018; 1-2: 24-31.
- Kudo K., Gavin E., Das S., Amable L., Shevde L.A., Reed E. Inhibition of Gli1 results in altered c-Jun activation, inhibition of cisplatin-induced upregulation of ERCC1, XPD and XRCC1, and inhibition of platinum-DNA adduct repair. *Oncogene.* 2012; 31(44): 4718-4724. DOI: 10.1038/onc.2011.610
- Santos A.M., Sousa H., Portela C., Pereira D., Pinto D., Catarino R., Rodrigues C., Araujo A.P., Lopes C., Medeiros R. TP53 and P21 polymorphisms: response to cisplatin/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 340(1): 256-262. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.11.176
- Hanssen-Bauer A., Solvang-Garten K., Akbari M., Otterlei M. X-ray repair cross complementing protein 1 in base excision repair. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(12): 17210-17229. DOI: 10.3390/ijms131217210
- Ke H.G., Li J., Shen Y., You Q.S., Yan Y., Dong H.X., Liu J.H., Shen Z.Y. Prognostic Significance of GSTP1, XRCC1 and XRCC3 Polymorphisms in NSCLC Patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2012; 13 (9): 4413-4416. DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.9.4413
- Butkiewicz D., Drosik A., Suwinski R., Krześniak M., Rusin M., Kosarewicz A., Rachtan J., Matuszczyk I., Gawkowska-Suwińska M. Influence of DNA repair gene polymorphisms on prognosis in inoperable non-small cell lung cancer patients treated with radiotherapy and platinum-based chemotherapy. *Int. J. Cancer.* 2012; 131: E1100-E1108. DOI: 10.1002/ijc.27596
- Zhang L., Ma W., Li Y., Wu J., Shi G.Y. Pharmacogenetics of DNA repair gene polymorphisms in non-small-cell lung carcinoma patients on platinum-based chemotherapy. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13(1): 228-236. DOI: 10.4238/2014.January.14.2
- Chen J., Zhao Q., Shi G., Wang L. XRCC1 Arg399Gln and clinical outcome of platinum-based treatment for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis in 17 studies. *J. Zhejiang Univ.-Sci. B (Biomed & Biotechnol).* 2012; 13(11): 875-883. DOI: 10.1631/jzus.B1200083
- Kang S., Sun H.-Y., Zhou R.-M., Wang N., Hu P., Li Y. DNA Repair Gene SNPs and Clinical Outcome of Epithelial Ovarian Cancer with Platinum-based Chemotherapy. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14: 941-946. DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.2.941
- Zhai X.H., Huang J., Wu F.X., Zhu D.Y., Wang A.C. Impact of XRCC1, GSTP1, and GSTM1 polymorphisms on the survival of ovarian carcinoma patients treated with chemotherapy. *Oncol. Res. Treat.* 2016; 39: 440-446. DOI: 10.1159/000447337
- Zhang Z., Xiang Q., Mu G., Xie Q., Chen Sh., Zhou Sh., Hu K.Y. XRCC1 polymorphism and overall survival in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. A systematic review and MOOSE-compliant meta-analysis. *Medicine.* 2018; 97: 45. DOI: 10.1097/MD.00000000000012996
- Li K., Li W. Association between polymorphisms of XRCC1 and ADPRT genes and ovarian cancer survival with platinum-based chemotherapy in Chinese population. *Mol. Cell Biochem.* 2013; 372: 27-33. DOI: 10.1007/s11010-012-1442-4
- Asis J., Pereira C., Nogueira A., Pereira D., Carreira R., Medeiros R. Genetic variants as ovarian cancer first-line treatment hallmarks: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat. Rev.* 2017; 61: 35-52. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.10.001
- Xiao S., Cui S., Lu X., Guan Y., Li D., Liu Q., Cai Y., Jin C., Yang J., Wu S., van der Straaten T. The ERCC2/XPD Lys751Gln polymorphism affects DNA repair of benzo[a]pyrene induced damage, tested in an in vitro model. *Toxicol. In Vitro.* 2016; 34: 300-8. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.04.015
- Khrunin A.V., Moisseev A., Gorbunova V., Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J.* 2010; 10: 54-61. DOI: 10.1038/tpj.2009.45
- Lambrechts S., Lambrechts D., Despierre E., Nieuwenhuysen E.V., Smeets D., Debruyne Ph.R., Renard V., Vroman Ph., Luyten D., Neven P., Amant F., Leunen K., Vergote I. Genetic variability in drug transport, metabolism or DNA repair affecting toxicity of chemotherapy in ovarian cancer. *BMC Pharmac. Toxicol.* 2015; 16: 2. DOI 10.1186/s40360-015-0001-5
- Su L., Sai Y., Fan R., Thurston S.W., Miller D.P., Zhou W., Wain J.C., Lynch T.J., Liu G., Christiani D.C. P53 (codon 72) and P21 (codon 31) polymorphisms alter in vivo mRNA expression of p21. *Lung Cancer.* 2003; 40(3): 259-266. DOI: 10.1016/S0169-5002(03)00081-3

References

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R.L., Torre, L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492
- Cho K.R., Shih Ie.M. Ovarian cancer. *Annu. Rev. Pathol.* 2009; 4: 287-313. DOI: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092246
- [*Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*]. Eds. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. M.: MRIO P.A. Herzen – department of FSBI “NMRRC” Ministry of Health of the Russian Federation, 2018. 250 p. (in Russian)
- Siegel K., Naishadham D., Jemal. A. Cancer statics, 2013. *CA Cancer J. Clin.* 2013; 63: 11-30. DOI: 10.3322/caac.21166
- Paul A., Paul S. The breast cancer susceptibility genes (BRCA) in breast and ovarian cancers. *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2014; 19: 605-618. DOI: 10.2741/4230
- Silver D.P., Richardson A.L., Eklund A.C., Wang Z.C., Szallasi Z., Li Q., Juul N., Leong C.O., Calogrias D., Buraimoh A., Fatima A., Gelman R.S., Ryan P.D., Tung N.M., De Nicolo A., Ganesan S., Miron A., Colin C., Sgroi D.C., Ellisen L.W., Winer E.P., Garber J.E. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(7): 1145-1153. DOI: 10.1200/JCO.2009.22.4725
- Byrski T., Huzarski T., Dent R., Gronwald J., Zuziak D., Cybulski C., Kladny J., Gorski B., Lubinski J., Narod S.A. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115(2): 359-363. DOI: 10.1007/s10549-008-0128-9
- Moiseyenko V.M., Dolmatov G.D., Moiseyenko F.V., Ivantsov A.O., Volkov N.M., Chubenko V.A., Abduloeva N.Kh, Bogdanov A.A., Sokolenko A.P., Imyanitor E.N. High efficacy of cisplatin neoadjuvant therapy in a prospective series of patients carrying BRCA1 germ-line mutation. *Med. Oncol.* 2015; 32(4): 89. DOI: 10.1007/s12032-015-0514-1
- Hollis R.L., Churchman M., Gourley C. Distinct implications of different BRCA mutations: efficacy of cytotoxic chemotherapy, PARP inhibition and clinical outcome in ovarian cancer. *Onco Targets Ther.* 2017; 10: 2539-2551. doi: 10.2147/OTT.S102569
- Dann R.B., DeLoia J.A., Timms K.M., Zorn K.K., Potter J., Flake D.D. 2nd, Lanchbury J.S., Krivak T.C. BRCA1/2 mutations and expression: response to platinum chemotherapy in patients with advanced stage epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 2012. 125(3): 677-682. DOI: 10.1016/j.ygyno.2012.03.006
- Gorodnova T.V., Sokolenko A.P., Ivantsov A.O., Iyevleva A.G., Suspitsin E.N., Aleksakhina S.N., Yanus G.A., Togo A.V., Maximov S.Y., Imyanitor E.N. High response rates to neoadjuvant platinum-based therapy in ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA mutation. *Cancer Lett.* 2015; 369(2): 363-367. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.08.028
- Biglia N., Sgandurra P., Bounous V.E., Maggiorotto F., Piva E., Pivetta E., Ponzzone R., Pasini B. Ovarian cancer in BRCA1 and BRCA2 gene mutation carriers: analysis of prognostic factors and survival. *Ecancermedicalscience.* 2016; 10: 639. DOI: 10.3332/ecancer.2016.639
- Suspitsin E.N., Sherina N.Y., Ponomariova D.N., Sokolenko A.P., Iyevleva A.G., Gorodnova T.V., Zaitseva O.A., Yatsuk O.S., Togo A.V., Tkachenko N.N., Shiyonov G.A., Lobeiko O.S., Krylova N.Y., Matsko D.E., Maximov S.Y., Urmancheyeva A.F., Porhanova N.V., Imyanitor E.N. High frequency of BRCA1, but not CHEK2 or NBS1 (NBN), founder mutations in Russian ovarian cancer patients. *Hered. Cancer Clin. Pract.* 2009; 7(1): 5. DOI: 10.1186/1897-4287-7-5
- Di Francia R., De Lucia L., Di Paolo M., Di Martino S., Del Pup L., De Monaco A., Lleshi A., Berretta M. Rational selection of predictive pharmacogenomics test for the Fluoropyrimidine/Oxaliplatin based therapy. *Eur. Rev. Med. Pharmacol Sci.* 2015; 19(22): 4443-4454.
- Vella N., Aiello M., Russo A.E., Scalisi A., Spandidos D.A., Toffoli G., Sorio R., Libra M., Stivala F. “Genetic profiling” and ovarian cancer therapy (review). *Mol. Med. Rep.* 2011; 4(5): 771-777. DOI: 10.3892/mmr.2011.512
- Bogush T.A., Stenina M.B., Boguh E.A., Zarkua V.T., Kalyuzhny S.A., Mamichev I.A., Tyulandina A.S., Tuylandin S.A., Polotsky B.E., Davidov M.M. [The quantitative indices of ERCC1 expression in serous ovarian cancer tissue and the efficacy of first-line platinum-based chemotherapy]. *Antibiotiki i chemioterapiya. [Antibiotics and chemotherapy]*. 2018; 1-2: 24-31. (in Russian)
- Kudo K., Gavin E., Das S., Amable L., Shevde L.A., Reed E. Inhibition of Gli1 results in altered c-Jun activation, inhibition of cisplatin-induced upregulation of ERCC1, XPD and XRCC1, and inhibition of platinum-DNA adduct repair. *Oncogene.* 2012; 31(44): 4718-4724. DOI: 10.1038/onc.2011.610
- Santos A.M., Sousa H., Portela C., Pereira D., Pinto D., Catarino R., Rodrigues C., Araujo A.P., Lopes C., Medeiros R. TP53 and P21 polymorphisms: response to cisplatin/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006; 340(1): 256-262. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.11.176
- Hanssen-Bauer A., Solvang-Garten K., Akbari M., Otterlei M. X-ray repair cross complementing protein 1 in base excision repair. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13(12): 17210-17229. DOI: 10.3390/ijms131217210
- Ke H.G., Li J., Shen Y., You Q.S., Yan Y., Dong H.X., Liu J.H., Shen Z.Y. Prognostic Significance of GSTP1, XRCC1 and XRCC3 Polymorphisms in NSCLC Patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2012; 13(9): 4413-4416. DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.9.4413
- Butkiewicz D., Drosik A., Suwinski R., Krzeński M., Rusin M., Kosarewicz A., Rachtan J., Matuszczyk I., Gawkowska-Suwińska M. Influence of DNA repair gene polymorphisms on prognosis in inoperable non-small cell lung cancer patients treated with radiotherapy and platinum-based chemotherapy. *Int. J. Cancer.* 2012; 131: E1100-E1108. DOI: 10.1002/ijc.27596
- Zhang L., Ma W., Li Y., Wu J., Shi G.Y. Pharmacogenetics of DNA repair gene polymorphisms in non-small-cell lung carcinoma patients on platinum-based chemotherapy. *Genet. Mol. Res.* 2014; 13(1): 228-236. DOI: 10.4238/2014.January.14.2
- Chen J., Zhao Q., Shi G., Wang L. XRCC1 Arg399Gln and clinical outcome of platinum-based treatment for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis in 17 studies. *J. Zhejiang Univ.-Sci. B (Biomed & Biotechnol).* 2012; 13(11): 875-883. DOI: 10.1631/jzus. B1200083
- Kang S., Sun H.-Y., Zhou R.-M., Wang N., Hu P., Li Y. DNA Repair Gene SNPs and Clinical Outcome of Epithelial Ovarian Cancer with Platinum-based Chemotherapy. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2013; 14: 941-946. DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.2.941
- Zhai X.H., Huang J., Wu F.X., Zhu D.Y., Wang A.C. Impact of XRCC1, GSTP1, and GSTM1 polymorphisms on the survival of ovarian carcinoma patients treated with chemotherapy. *Oncol. Res. Treat.* 2016; 39: 440-446. DOI: 10.1159/000447337
- Zhang Z., Xiang Q., Mu G., Xie Q., Chen Sh., Zhou Sh., Hu K.Y. XRCC1 polymorphism and overall survival in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. A systematic review and MOOSE-compliant meta-analysis. *Medicine.* 2018; 97: 45. DOI: 10.1097/MD.00000000000012996
- Li K., Li W. Association between polymorphisms of XRCC1 and ADPRT genes and ovarian cancer survival with platinum-based chemotherapy in Chinese population. *Mol. Cell Biochem.* 2013; 372: 27-33. DOI: 10.1007/s11010-012-1442-4
- Asis J., Pereira C., Nogueira A., Pereira D., Carreira R., Medeiros R. Genetic variants as ovarian cancer first-line treatment hallmarks: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat. Rev.* 2017; 61: 35-52. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.10.001
- Xiao S., Cui S., Lu X., Guan Y., Li D., Liu Q., Cai Y., Jin C., Yang J., Wu S., van der Straaten T. The ERCC2/XPD Lys751Gln polymorphism affects DNA repair of benzo[a]pyrene induced damage, tested in an in vitro model. *Toxicol. In Vitro.* 2016; 34: 300-8. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.04.015
- Khrunin A.V., Moiseev A., Gorbunova V., Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J.* 2010; 10: 54-61. DOI: 10.1038/tpj.2009.45
- Lambrechts S., Lambrechts D., Despierre E., Nieuwenhuysen E.V., Smeets D., Debruyne Ph.R., Renard V., Vroman Ph., Luyten D., Neven P., Amant F., Leunen K., Vergote I. Genetic variability in drug transport, metabolism or DNA repair affecting toxicity of chemotherapy in ovarian cancer. *BMC Pharmac. Toxicol.* 2015; 16: 2. DOI: 10.1186/s40360-015-0001-5
- Su L., Sai Y., Fan R., Thurston S.W., Miller D.P., Zhou W., Wain J.C., Lynch T.J., Liu G., Christiani D.C. P53 (codon 72) and P21 (codon 31) polymorphisms alter in vivo mRNA expression of p21. *Lung Cancer.* 2003; 40(3): 259-266. DOI: 10.1016/S0169-5002(03)00081-3

Сведения об авторах:

Заварыкина Татьяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук

Тюляндина Александра Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Логинов Виталий Игоревич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики сложно наследуемых заболеваний Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»

Бурдённий Алексей Михайлович – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук; ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Аткарская Марина Васильевна – научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук

Бреннер Полина Константиновна – студентка ветеринарно-биологического факультета отделения «Биохимия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Капралова Мария Андреевна – студентка ветеринарно-биологического факультета отделения «Биохимия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина»

Стенина Марина Борисовна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 612.172.2

Эффекты добавочного дыхательного сопротивления у подростков с повышенным тонусом симпатической нервной системы

Еркудов В.О., Пуговкин А.П.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

Изучены закономерности изменения вегетативного компонента регуляции деятельности сердца при включении дозированного дыхания с добавочным сопротивлением (ДДС) у подростков с исходным преобладанием тонуса симпатической нервной системы (ПТСНС).

Методы. В исследовании приняли участие 17 человек, из них 8 юношей и 9 девушек, в возрасте от 14 до 17 лет. Всем добровольцам проводили регистрацию кардиоинтервалограммы с анализом вариабельности сердечного ритма (ВСР) до и во время дыхания с ДДС. Проводили анализ ВСР с выявлением вегетативного тонуса у детей с исходно ПТСНС.

Результаты. Выявлено значимое снижение тонуса симпатической и возрастание тонуса парасимпатической нервной системы у детей с ПТСНС. Результаты работы позволяют прогнозировать изменения вегетативной регуляции деятельности сердца у детей в условиях закрытого помещения с длительно находящимися там людьми.

Ключевые слова: подростки; вариабельность сердечного ритма; добавочное дыхательное сопротивление; тонус вегетативной нервной системы.

Для цитирования: Еркудов В.О., Пуговкин А.П. Эффекты добавочного дыхательного сопротивления у подростков с повышенным тонусом симпатической нервной системы. *Патогенез*. 2019; 17(1): 82-84.

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.82-84

Для корреспонденции: Еркудов Валерий Олегович, e-mail: verkudov@gmail.com

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 11.10.2018

Effects of additional respiratory resistance in adolescents with increased sympathetic tone

Erkudov V.O., Pugovkin A.P.

St. Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya Str. 2, St. Petersburg 194100, Russian Federation

Changes in neurogenic regulation of the heart function were studied after the onset of dosed lung ventilation with artificially increased total airway resistance in 8 male and 9 female adolescents aged 14-17 with originally high tone of the sympathetic system. Analysis of cardiointervalography and heart rate variability showed a significant decrease in sympathetic tone and an increase in parasympathetic tone due to the respiration with additional resistance, which can be regarded as a model for prediction of changes in neurogenic regulation of the heart function in children after a lengthy stay in a stuffy, enclosed area.

Key words: adolescents; heart rate variability; additional respiratory resistance; autonomic tone.

For citation: Erkudov V.O., Pugovkin A.P. [Effects of additional respiratory resistance in adolescents with increased sympathetic tone]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 82-84 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.82-84

For correspondence: Erkudov Valeriy Olegovich, e-mail: verkudov@gmail.com

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 11.10.2018

Введение

Дыхание с добавочным сопротивлением (ДДС) можно рассматривать в качестве функциональной пробы, имитирующей условия, возникающие в закрытом помещении при длительном нахождении в нем людей, как это происходит, например, в школьном помещении [1, 2]. Реактивность гемодинамики в ответ на предъявление данной пробы изучена на примере младших школьников, но при этом ДДС не дозировалось [1, 2].

Целью работы являлось изучение изменений нейрогенного компонента регуляции деятельности сердца

при включении дозированного ДДС у подростков с исходным преобладанием тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы (ПТСНС).

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в рамках договора о сотрудничестве между Санкт-Петербургским педиатрическим медицинским университетом и средней общеобразовательной школой №225 Адмиралтейского района Санкт-Петербурга, и одобрено Этическим комитетом при Санкт-Петербургском государственном

педиатрическом медицинском университете (протокол № 3 от 02.10.2017 года). В исследовании приняли участие 17 человек, 8 юношей и 9 девушек в возрасте от 14 до 17 лет – из числа учеников данной школы. Всем испытуемым в положении сидя проводили регистрацию фотоплетизмограммы на I пальце правой руки с применением программно-аппаратного комплекса BioMouse («Биомышь исследовательская КПФ-01b», производства ЗАО «Нейролаб», Россия, Москва), с целью последующего анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР). Регистрацию проводили сначала в фоновом режиме, в течение 5 минут. Затем испытуемому предлагали в течение 5 минут дышать через резистивную маску Elevation Training Mask 2.0 (запатентованное устройство [3], имитирующее дыхательное сопротивление, эквивалентное дыхательной недостаточности на высоте 1800 м).

С помощью компьютерной системы сбора и анализа данных «Комплекс BioMouse», версия 3.1, сборка 4120 (редакция 2733), ЗАО «Нейролаб», рассчитывали основные показатели ВСР (таблица). На основании анализа параметров ВСР в условиях покоя и при дыхании через маску осуществляли оценку тонуса вегетативной нервной системы [4]. Заключение о ПТСНС делали при наличии у испытуемого одной из двух комбинаций: 1) величина индекса напряжения (ИН) больше 100 у.е. и мощность диапазона VLF спектра ВСР больше 240 мс²; 2) величина индекса напряжения (ИН) больше 100 у.е. и мощность диапазона VLF спектра ВСР меньше 240 мс² [4]. О преобладании тонуса парасимпатической системы (ПТПНС) свидетель-

ствовала одна из двух комбинаций: 1) либо величина ИН выше 25 у.е. и ниже 100 у.е. и мощность диапазона VLF больше 240 мс²; 2) либо величина ИН ниже 25 у.е. и мощность диапазона VLF больше 500 мс² [4].

Критерием исключения испытуемого из обследования являлось непопадание полученных величин ИН и/или VLF в указанные диапазоны. Реакцию вегетативной нервной системы, оцениваемой по совокупности параметров ВСР в ответ на дыхание в маске, анализировали у подростков, имеющих исходно высокий тонус только симпатической нервной системы, поскольку у подростков с исходно высоким тонусом парасимпатической системы изменений показателей ВСР после воздействия не имело места.

Оценку статистической значимости изменений показателей ВСР после дыхания в маске осуществляли с применением парного Т-критерия Вилкоксона, вычислялась разница псевдомедиан Ходжеса-Лемана до и после воздействия. Вычисления производились с применением встроенных функций Excel из прикладного пакета Microsoft Office 2010; программы статистической обработки данных Past version 2.17, Norway, Oslo, 2012. Все данные представлены в виде: средние значения; нижняя и верхняя граница доверительного интервала для средних значений или средней разницы псевдомедиан.

Результаты исследования и обсуждение

Выявлено долевое соотношение испытуемых с ПТСНС и с ПТПНС как 0,41 (0,18; 0,70) и 0,58 (0,30; 0,82) (доля, нижняя и верхняя граница 95% дове-

Таблица 1.

Изменение вегетативной регуляции сердечного ритма после включения ДДС у подростков с исходно с ПТСНС (средние значения; нижняя и верхняя граница доверительного интервала для средних значений или средней разницы псевдомедиан; значения $p < 0,05$ выделены жирным шрифтом).

Параметр ВСР	До включения ДДС	После включения ДДС	Средняя Δ	p
ЧСС, уд/мин	96,0 (82,8; 109,2)	87,5 (75,3; 9,6)	-7,2 (-17,7; -1,6)	0,031
RR, мс	636 (555; 717)	698 (611; 785)	60 (7; 111)	0,032
МхDMп, мс	237 (206; 269)	696 (386; 1024)	532 (90; 826)	0,030
SDNN, мс	37,1 (28,7; 45,6)	123,3 (34,7; 211,9)	76,4 (10,0; 187,0);	0,039
RMSSD, мс	593 (510; 677)	1100 (650; 1549)	502 (42; 936)	0,039
pNN50, %	3,81 (1,95; 5,68)	15,77 (4,53; 27,01)	10,9 (1,0; 21,5)	0,039
AMo, %	50,20 (39,72; 60,68)	32,95 (24,93; 40,99)	-12,07 (-27,40; -6,70)	0,023
ИН, у.е.	171,4; (101,3; 241,6)	52,0 (7,4; 96,5)	-125,8 (-256,8; -2,0)	0,031
HF, мс ²	749 (594; 905)	1529 (860; 2200)	784 (202; 1422)	0,032
HF, %	37,8 (32,8; 42,8)	33,6 (21,5; 45,8)	-4,0 (-19,2; 10,0)	0,690
LF, мс ²	718 (515; 922)	1517 (885; 2149)	782 (352; 1211)	0,023
LF, %	39,4 (35,4; 43,4)	34,3 (23,8; 44,8)	-5,4 (-13,8; 3,6)	0,225
VLF, мс ²	366 (223; 510)	130 (184; 242)	1041 (-143; 2335)	0,473
VLF, %	17,8 (14,5; 21,0)	20,9 (11,5; 30,4)	4,2 (-8,9; 16,5)	0,581
ULF, мс ²	99,4 (75,8; 123,1)	751,6 (-101,8; 16,15)	495,1 (-27,0; 1610,0)	0,163
ULF, %	5,1 (4,0; 6,2)	11,2 (1,8; 20,6)	3,9 (-1,9; 16,4)	0,302
TP, мс ²	1904 (1421; 2396)	5102 (2339; 7864)	3262 (84; 6401)	0,016

рительного интервала для доли) — по отношению к общему числу обследованных детей. Анализ данных показал, что при дыхании с добавочным сопротивлением у детей с ПТСНС имеют место статистически значимое увеличение значений средней длительности межсистолических интервалов (RR), статистических показателей ВСП МхDMn, RMSSD, pNN50%, SDNN, общей мощности спектра ВСП (TP) и мощности диапазона низких частот (LF). При этом обнаружено снижение значений статистических показателей ВСП АМо и стресс-индекса (ИН), и частоты сердечных сокращений (ЧСС) (таблица).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффекте увеличения акцента парасимпатической регуляции и снижении симпатической составляющей вегетативного тонуса при дыхании с добавочным сопротивлением, что соответствует предположениям, сформулированным в литературе [1, 2]. Одним из возможных механизмов подобной реакции можно считать афферентные влияния с рецепторов растяжения легких на возбудимость центра блуждающего нерва, имеющее двухфазный характер [5]. Во время первой фазы сниженный из-за добавочного сопротивления дыхательный объем является причиной уменьшения тормозного влияния афферентной нагрузки на рецепторы растяжения легких, растормаживания инспираторных механизмов дыхательного центра, и, как следствие, увеличения продолжительности вдоха [5, 6]. Углубленное дыхание способствует усиленному раздражению рецепторов растяжения легких, которые связаны прямыми анатомическими связями с центром блуждающего нерва, усиленная афферентная нагрузка на который способствует возрастанию его тонуса, в том числе, и в отношении сердца [5].

Заключение

В работе предпринята попытка поиска закономерности реакции вегетативных регуляторных механизмов регуляции деятельности сердца при предъявлении ДД — пробы, имитирующей закрытое пространство с большим скоплением людей, у подростков с ПТСНС. Результаты исследования могут быть полезны в качестве прогностического механизма изменения вегетативного тонуса в данных условиях, к примеру, в отношении возможного возникнове-

ния синкопальных состояний вазовагального генеза в течение урока.

Список литературы

1. Панкова Н.Б., Карганов М.Ю. Результаты применения функциональной пробы с увеличением «мертвого» дыхательного пространства для оценки функциональной зрелости сердечно-сосудистой системы подростков. *Новые исследования*. 2009; 3 (20): 44-55.
2. Труханов А.И., Панкова Н.Б., Хлебникова Н.Н., Карганов М.Ю. Использование метода спироартериокардиографии в качестве функциональной пробы для оценки состояния кардиореспираторной системы взрослых и детей. *Физиология человека*. 2007; 33(5): 82-92.
3. Danford C.J. *High performance ventilatory training mask incorporating multiple and adjustable air admittance valves for replicating various encountered altitude resistances*. Patent USA US9067086B2; 2015
4. Шлык Н.И. *Сердечный ритм и тип регуляции у детей, подростков и спортсменов*. Ижевск.: Издательство Удмуртского государственного университета, 2009. 254 с.
5. Александрова Н.П., Бреслав И.С. Дыхательные мышцы человека: три уровня управления. *Физиология человека*. 2009; 35(2): 103-111.
6. Сегизбаева М.О., Александрова Н.П. Влияние тренировки с использованием дыхательного тренажера Elevation Training Mask 2.0 на функциональный резерв респираторной мускулатуры. *Физиология человека*. 2018; 44(6): 59-66.

References

1. Pankova N.B., Karganov M.Yu. [The results of using functional test with increased «dead» breathing space for evaluation of functional maturity of cardiovascular system in adolescents]. *Novye issledovaniya. [New researches]*. 2009; 3 (20): 44-55. (in Russian)
2. Trukhanov A.I., Pankova N.B., Khlebnikova N.N., Karganov M.Yu. [The use of spiroarteriocardiorhythmography as a functional test for estimating the state of the cardiorespiratory system in adults and children]. *Fiziologija cheloveka. [Human Physiology]*. 2007; 33(5): 82-92. (in Russian)
3. Danford C.J. *High performance ventilatory training mask incorporating multiple and adjustable air admittance valves for replicating various encountered altitude resistances*. Patent USA US9067086B2; 2015
4. Shlyk N.I. [Heart rate and regulation type of children, teenagers and sportsmen]. Izhevsk.: Udmurt State University, 2009. 254 (in Russian)
5. Aleksandrova N.P., Breslav I.S. [Human respiratory muscles: Three levels of control]. *Fiziologija cheloveka. [Human Physiology]*. 2009; 35(2): 103-111. (in Russian)
6. Segizbaeva M.O., Aleksandrova N.P. [Effect of the Elevation Training Mask on the functional outcomes of the respiratory muscles]. *Fiziologija cheloveka. [Human Physiology]*. 2018; 44(6): 59-66. (in Russian)

Сведения об авторах:

Еркудов Валерий Олегович — кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Пуговкин Андрей Петрович — доктор биологических наук, старший научный сотрудник, профессор кафедры нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

УДК 616-092

Противовоспалительное действие релиз-активных антител к интерферону-гамма, CD4-рецептору и гистамину при респираторно-синцитиальной вирусной инфекции*

Емельянова А.Г., Тарасов С.А., Морозов С.Г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Актуальность. Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) вызывает наиболее опасные инфекции у детей, особенно до 1 года, являясь основной причиной смертельных исходов, и способствует развитию бронхиальной астмы. Эффективной терапии в отношении вызываемой им инфекции не существует, а меры профилактики ограничены. Перспективным может быть использование препаратов на основе релиз-активных антител (РА АТ), действие которых направлено на иммунные реакции организма. **Целью** работы являлось изучение эффектов РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину при РСВ-инфекции *in vivo* при их профилактическом введении. **Методы.** Мышей линии Balb/c инфицировали интраназально РСВ в дозе 5×10^6 TCID₅₀/мышь, в течение 5 суток до инфицирования животным вводили РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину, или отрицательный контроль (вода очищенная). Через 6 суток после инфицирования оценивали инфильтрацию клеток воспаления в дыхательные пути. **Результаты.** РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину статистически значимо ($p < 0,05$) снижают общую инфильтрацию клеток воспаления в легкие, а также уровень лимфоцитов и макрофагов по сравнению с контрольными группами. **Заключение.** Профилактическое применение РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину способствует снижению выраженности воспаления дыхательных путей экспериментальных животных, зараженных РСВ.

Ключевые слова: респираторно-синцитиальный вирус; релиз-активные антитела; интерферон-гамма; гистамин; CD4-рецептор; воспаление.

Для цитирования: Емельянова А.Г., Тарасов С.А., Морозов С.Г. Противовоспалительное действие релиз-активных антител к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину при респираторно-синцитиальной вирусной инфекции.

Патогенез. 2019; 17(1): 85-89.

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.85-89

Для корреспонденции: Емельянова Александра Геннадиевна, e-mail: agemelianova@gmail.com

Финансирование. ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ» выступала в роли спонсора описанных исследований.

Конфликт интересов. ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг» выступала в роли спонсора описанных исследований. Емельянова А.Г., Тарасов С.А., являясь сотрудниками ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг», участвовали в планировании экспериментального дизайна исследования, статистическом анализе и обобщении его результатов. ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг» осуществляет производство и продажу препарата «Эргоферон», активный фармацевтический ингредиент которого тестировали в данной работе. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Поступила: 04.10.2018

Anti-inflammatory activity of released-active antibodies to interferon-gamma, CD4-receptor, and histamine against respiratory-syncytial viral infection

Emelianova A.G., Tarasov S.A., Morozov S.G.

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Background. Respiratory syncytial virus (RSV) causes the most dangerous infections in children, especially those under one year, being the main cause of deaths and contributing to the development of bronchial asthma. There is no effective treatment for the causative infection, and preventive measures are limited. The use of drugs based on released-active antibodies (RA Abs) that target the immune response may be promising. **Aim.** The aim of the work was to study preventive effects of RA Abs to interferon-gamma (IFN-gamma), CD4 receptor, and histamine on RSV infection *in vivo*. **Methods** Balb/c mice were infected with RSV intranasally at a dose of 5×10^6 TCID₅₀ per mouse. For 5 days prior to infection, RA Abs to IFN-gamma, CD4 receptor, and histamine or the negative control (purified water) were intragastrically administered to the animals. Infiltration of inflammatory cells into the respiratory tract was evaluated 6 days after infection. **Results.** RA Abs to IFN-gamma, CD4 receptor, and histamine significantly ($p < 0.05$) reduced the total infiltration of inflammatory cells into the lungs, as well as levels of lymphocytes and macrophages compared with the control groups. **Conclusion.** The prophylactic use of RA Abs to IFN-gamma, CD4 receptor, and histamine helps to alleviate severity of airway inflammation in experimental animals infected with RSV.

Key words: respiratory-syncytial virus, released-active antibodies, interferon-gamma, histamine, CD4 receptor, inflammation

For citation: Emelianova A.G., Tarasov S.A., Morozov S.G. [Anti-inflammatory activity of released-active antibodies to interferon-gamma, CD4-receptor, and histamine against respiratory-syncytial viral infection]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 85-89 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.85-89

* Мнения авторов публикации и редакционной коллегии могут не совпадать.

For correspondence: Emelianova Alexandra Gennadievna, e-mail: agemelianova@gmail.com

Funding. LLC «NPF Materia Medica Holding» acted as a sponsor of the described studies.

Conflict of interest. LLC «NPF Materia Medica Holding» acted as a sponsor of the described studies. Emelianova A.G., Tarasov S.A. being employees of LLC «NPF Materia Medica Holding» participated in planning of experimental design of this research, statistical analysis of its results and made conclusions. LLC «NPF Materia Medica Holding» manufactures and sells the drug Ergoferon, the active pharmaceutical ingredient of which was tested in this study. Materials of the paper have not been previously published elsewhere.

Received: 04.10.2018

Введение

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) является этиологической причиной наиболее опасных инфекций у детей, вызывая большинство случаев младенческой смертности (в возрасте до 1 года), а также — 50-60% всех вирусных пневмоний, 70% бронхитов и бронхолитов и способствуя развитию бронхиальной астмы [1].

Несмотря на актуальность проблем противодействия данной инфекции, существует только один препарат, который может быть использован для лечения РСВ-инфекции — рибавирин, аналог гуанозина, способный нарушать транскрипцию вируса. В то же время, рибавирин обладает тератогенным эффектом, а также рядом побочных эффектов, которые отличаются в зависимости от лекарственной формы, в связи с чем его применение ограничено [2]. Что касается мер эффективной профилактики развития РСВ-инфекции, то разработка вакцины затруднена в связи с отсутствием развития стойкого иммунного ответа на реинфекцию даже после естественного перенесённого заболевания, а попытки использовать первую вакцину, созданную в 60-х годах XX века, приводили к усугублению заболевания и даже случаям смертельных исходов [1]. В настоящее время для профилактики используются моноклональные антитела — паливизумаб — к одному из белков вируса, ответственному за его прикрепление и вход в клетку. Однако их применение требует значительных финансовых затрат, длительного введения, и одобрено для применения только у группы детей с высоким риском заболевания (в возрасте до 2 лет) [1, 2].

Использование в качестве мер профилактики и лечения РСВ-инфекции релиз-активных (РА) антител (АТ) к компонентам иммунного ответа может быть одним из перспективных подходов. РА препараты на основе АТ к интерферону-гамма (ИФН-гамма), CD4-рецептору и гистамину могут эффективно применяться для лечения и профилактики ряда инфекционных заболеваний, в том числе, ОРВИ [3]. Кроме того, воздействуя на механизмы иммунной защиты организма [4, 5], они обеспечивают борьбу с инфекцией за счет его собственного защитно-приспособительного потенциала и нивелируют риски развития лекарственной резистентности. Ранее мы показали, что РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину могут быть перспективны при РСВ-инфекции, поскольку в экспериментах *in vitro* они демонстрировали противовирусные эффекты после введения

их в лечебном режиме [6]. Целью настоящей работы являлось изучение эффектов РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину при РСВ-инфекции *in vivo* при профилактическом режиме введения.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 30 линейных мышей Balb/c (самки массой 18-24 г на начало исследований), полученных из питомника «Столбовая» ФГБУН «Научного центра биомедицинских технологий» ФМБА России. Мыши содержались в неполной барьерной системе по 5 особей, в пластиковых клетках при температуре воздуха 18-22°C и 12-часовом цикле день/ночь, при свободном доступе к воде и пище. Исследования были проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 04.06.2018), и [7]. Все процедуры с животными, используемыми в экспериментах, были рассмотрены и утверждены комиссией по биоэтике ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России на предмет соответствия регулирующим актам, протокол комиссии № 6/17 от 06.12.2017.

В экспериментах также использовали РСВ штамм А2, полученный из ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», размноженный на культуре клеток Нер2 (эпителиальные клетки аденокарциномы гортани человека). Размноженный вирус хранили в жидком азоте (-196°C), перед началом работы с ним его размораживали и титровали в 96-луночных планшетах на клетках МА-104. Титр вируса рассчитывали по методу Спирмена-Кербера и выражали как тканевую цитопатогенную дозу, вызывающую гибель 50% клеток (ТЦД₅₀/мл). Титр вируса составил 1×10^9 ТЦД₅₀/мл.

Мышей инфицировали РСВ интраназально под легким кетаминным наркозом при относительной влажности 50-70% и температуре 24°C в дозе 5×10^6 ТЦД₅₀/мышь. РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину вводили животным ($n = 10$) в виде водного раствора внутривентрикулярно в дозе 20 мл/кг/сут 2 раза в сутки в течение 5 суток до заражения. В качестве контроля инфицирования в исследование была включена группа зараженных животных ($n = 10$), которым не вводили какие-либо препараты (нелечебный контроль). Животные отрицательного контроля

($n = 10$) получали воду очищенную по схеме введения РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину. РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину, а также вода очищенная были предоставлены в зашифрованном виде как водные растворы, готовые к использованию, компанией ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг».

В исследовании оценивали клеточный состав бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) на 6 день после инфицирования. Анализ БАЛ проводился по методике, описанной ранее [8]. Животных умерщвляли путем цервикальной дислокации шейных позвонков и выделяли трахею. В переднюю поверхность средней трети трахеи через инъекционную иглу вводили 1 мл предварительно подготовленной теплой среды (RPMI 1640, 10% эмбриональная телячья сыворотка, 0,2% этилендиаминтетраацетата натрия), затем шприцем отсасывали введенную в легкие жидкость и переносили ее в отдельные стерильные пробирки. Полученный БАЛ центрифугировали при 150 об/мин в течение 10 минут, клеточный осадок ресуспендировали и наносили на предметное стекло, изготавливали мазки и окрашивали азуром и эозином по Романовскому по стандартной методике. С помощью иммерсионной световой микроскопии (увеличение в 400 раз) подсчитывали содержание макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов бронхоальвеолярного тракта на 300 клеток мазка.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы SAS 9.4. После проверки полученных данных на нормальность распределения и однородность дисперсий для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ над логарифмированными данными с последующим множественным сравнением методом симуляции критерия Тьюки. Данные представлены в виде $M \pm SD$ (M – среднее, SD – стандартное отклонение). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

При инфицировании животных РСВ штамма А2 происходила инфильтрация клеток в легкие (рис. 1). Дисперсионный анализ показал наличие статистически значимых различий между группами: $F_{(3,26)} = 6930,0$, $p < 0,001$. У мышей, получавших курс профилактического введения РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину, отмечалось статистически значимое снижение количества клеток в БАЛ в 3 и 1,8 раза по сравнению с инфицированными мышами группы нелеченого контроля ($p < 0,001$), а также мышами, получавшими отрицательный контроль, соответственно ($p = 0,003$).

Инфицирование РСВ ожидаемо приводило к выраженной инфильтрации лимфоцитов в легкие мышей группы нелеченого контроля. Дисперсионный анализ также выявил наличие статистически значимых отличий между группами: $F_{(3,24)} = 669,8$, $p < 0,001$. Так, количество лимфоцитов в БАЛ снижалось в 4,5 раза у мышей группы отрицательного контроля ($p = 0,033$ по сравнению с группой нелеченого контроля). Однако максимальное снижение количества лимфоцитов в БАЛ происходило в группе, получавшей РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину – в 6,5 раз. Тем не менее, оно достигло статистической значимости только по сравнению с группой нелеченого контроля ($p < 0,001$); сравнение с группой отрицательного контроля статистически значимых отличий не выявило ($p = 0,097$) (рис. 2).

Анализ инфильтрации макрофагов в БАЛ животных показал статистически значимые различия между группами ($F_{(3,26)} = 8585,7$). Дальнейший *post-hoc* анализ выявил значимое снижение данного показателя в группе РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину по сравнению с группами обоих контролей ($p = 0,002$ по сравнению с отрицательным контролем; $p < 0,001$ по сравнению с нелеченым контролем) (рис. 3).

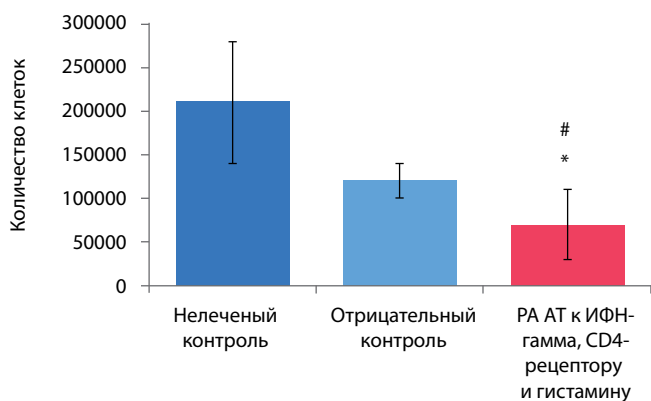


Рис. 1. Общая инфильтрация клеток воспаления в 1 мл БАЛ экспериментальных мышей. Обозначения статистической значимости отличий ($p < 0,05$): * – от отрицательного контроля; # – от нелеченого контроля.

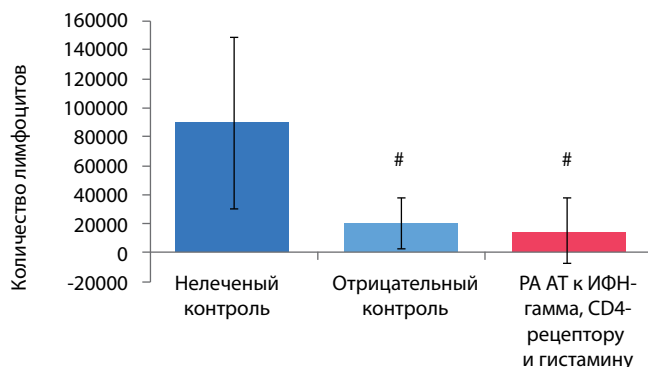


Рис. 2. Инфильтрация лимфоцитов в 1 мл БАЛ экспериментальных мышей. Обозначения статистической значимости отличий – как на рис. 1.

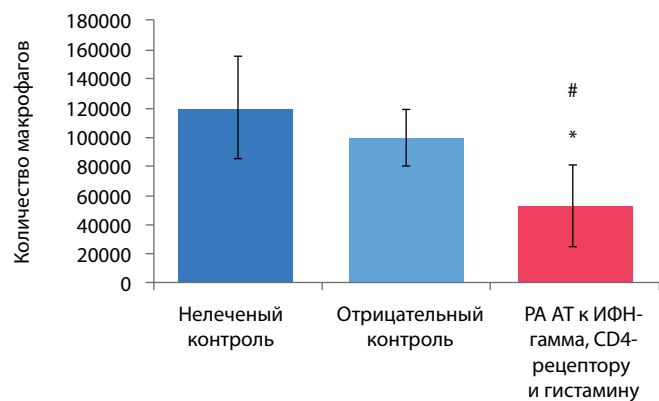


Рис. 3. Инфильтрация макрофагов в 1 мл БАЛ экспериментальных мышей. Обозначения статистической значимости отличий — как на рис. 1.

В результате изучения клеточного состава БАЛ было показано, что инфильтрации нейтрофилов и эозинофилов в легкие при развитии РСВ-инфекции практически не происходило, поэтому статистическому анализу эти данные не подвергали.

Обсуждение

На экспериментальной модели РСВ-инфекции мы показали уменьшение выраженности лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрации, характерных для мышей с данной инфекцией [9], у животных, получавших профилактически РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину. Выявленное снижение клеточной инфильтрации характеризует ослабление воспалительного процесса [10], которое может быть обусловлено наличием противовоспалительных эффектов у компонентов изучаемого комплекса РА АТ. Так, ранее было показано, что РА АТ к гистамину проявляют свойства антагонистов в отношении рецепторов H4 гистамина [4]. При этом известно, что H4-рецепторы в большинстве своём представлены на клетках иммунной системы и играют ключевую роль в гистамин-индуцированном хемотаксисе и активации эозинофилов, тучных клеток, а также других иммунных клеток [11]. Снижая степень активации H4-рецептора, РА АТ к гистамину, вероятно, подавляют инфильтрацию воспалительных клеток в легкие и соответственно их содержание в БАЛ. С другой стороны, известно, что РСВ способен подавлять продукцию ИФН-гамма и сдвигать Т-хелперные иммунные реакции в сторону образования Т-хелперов 2 [1, 10], при этом для РА АТ к ИФН-гамма показано усиление ИФН-гамма-зависимых реакций [5]. Таким образом, наблюдаемый эффект комплекса РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину, вероятно, связан с активацией ИФН-гамма, сдвигом равновесия в сторону образования Т-хелперов 1 типа, необходимых для элиминации вируса, а также блокированием передачи сигнала от H4 рецепторов гистамина.

Заключение

Профилактическое применение РА АТ к ИФН-гамма, CD4-рецептору и гистамину снижает инфильтрацию воспалительных клеток в дыхательные пути экспериментальных животных, зараженных респираторно-синцитиальным вирусом.

Список литературы

1. Кешишян Е.С. Иммунопрофилактика респираторно-синцитиальной вирусной инфекции: 15 лет мирового опыта. *Педиатрическая фармакология*. 2013; 10(4): 6-14. DOI: 10.15690/pf.v10i4.750
2. Graham B.S., Anderson L.J. Challenges and opportunities for respiratory syncytial virus vaccines. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 2013; 372: 391-404. DOI: 10.1007/978-3-642-38919-1_20
3. Геппе Н.А., Кондюрина Е.Г., Галустян А.Н., Пак Т.Е., Бальдерович Н.Б., Жиглинская О.В., Камаев А.В., Лазарева С.Г., Лалэко С.Л., Мельникова И.М., Перминова О.А., Сабитов А.У. Жидкая лекарственная форма Эргоферона — эффективное и безопасное средство лечения острых респираторных инфекций у детей. промежуточные итоги многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного клинического исследования. *Антибиотики и химиотерапия*. 2014; 59(5-6): 6-14.
4. Наплекова П.Л., Емельянова А.Г., Тарасов С.А., Кожевникова Е.Н., Морозов С.Г. Влияние релиз-активных антител к гистамину на функциональную активность H4-рецепторов in vitro. *Патогенез*. 2018; 16(3): 134-136. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.135-137
5. Тарасов С.А., Качанова М.В., Горбунов Е.А., Заболотнева Ю.А., Хейфец И.А., Белополюская М.В., Бородавкина М.В., Дугина Ю.Л., Сергеева С.А., Эпштейн О.И. Анаферон — эффективное средство для лечения и профилактики широкого спектра инфекционных заболеваний. *Вестник Международной Академии Наук, Русская секция*. 2010; 1: 23-27.
6. Шиловский И.П., Корнилова Г.В., Хаитов М.Р. Новые возможности в терапии респираторно-синцитиальной вирусной инфекции: данные доклинического исследования препарата «Эргоферон». *Иммунология*. 2012; 33(3): 144-148.
7. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
8. Khaitov M.R., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Shershakova N.N., Kamyshenikov O.Y., Babakhin A.A., Zverev V.V., Johnston S.L., Khaitov R.M. Small interfering RNAs targeted to interleukin-4 and respiratory syncytial virus reduce airway inflammation in a mouse model of virus-induced asthma exacerbation. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25(7): 642-650. DOI: 10.1089/hum.2013.142
9. Bem R.A., Domachowski J.B., Rosenberg H.F. Animal models of human respiratory syncytial virus disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2011; 301(2): L148-156. DOI: 10.1152/ajplung.00065.2011
10. Moldoveanu B., Otmishi P., Jani P., Walker J., Sarmiento X., Guardiola J., Saad M., Yu J. Inflammatory mechanisms in the lung. *J. Inflamm. Res.* 2009; 2: 1-11.
11. Allie S.R., Randall T.D. Pulmonary immunity to viruses. *Clin. Sci. (Lond.)* 2017; 131(14): 1737-1762. DOI: 10.1042/CS20160259

References

1. Keshishyan E.S. [Respiratory syncytial virus infection immunization: 15 years of global experience]. *Pediatricheskaya farmakologiya [Pediatric Pharmacology]*. 2013; 10(4):6-14. DOI: 10.15690/pf.v10i4.750 (in Russian)
2. Graham B.S., Anderson L.J. Challenges and opportunities for respiratory syncytial virus vaccines. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 2013; 372: 391-404. DOI: 10.1007/978-3-642-38919-1_20
3. Geppe N.A., Kondiurina E.G., Galustyan A.N., PAK T.E., Baltserovich N.B., Zhiglinskaya O.V., Kamaev A.V., Lazareva S.G., Laleko S.L., Melnikova I.M., Perminova O.A., Sabitov A.U.

- [Ergoferon liquid dosage form – efficacious and safe treatment for childhood acute respiratory infections. interim outcomes of a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial]. *Antibiotiki i Khimioterapiya [Antibiotics and chemotherapy]*. 2014; 59(5-6): 6-14. (in Russian)
4. Naplyokova P.L., Emelyanova A.G., Tarasov S.A., Kozhevnikova E.N., Morozov S.G. [Effect of release-active antibodies on the in vitro functional activity of H4-receptors]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(3): 134-136. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.135-137(in Russian)
 5. Tarasov S.A., Kachanova M.V., Gorbunov E.A., Zabolotneva J.A., Kheifets I.A., Belopolskaya M.V., Borodavkina M.V., Dugina J.L., Sergeeva S.A., Epstein O.I. [Anaferon – effective medicine for treatment and profilaxis a wide spectrum of infections]. *Vestnik Mezhdunarodnoj Akademii Nauk, Russkaya sekcija [Bulletin of the International Academy of Sciences, Russian section]*. 2010; 1: 23-27. (in Russian)
 6. Shilovsky I.P., Kornilaeva G.V., Khaitov M.R. [Novel possibilities for the treatment of the respiratory –syncytial viral infection: the results of the preclinical study of ergoferon]. *Immunologija [Immunology]*. 2012; 33(3): 144-148. (in Russian)
 7. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs]. Part One. Ed. A.N.Mironov. M.: Grief and K, 2012. 944 p. (in Russian)
 8. Khaitov M.R., Shilovskiy I.P., Nikonova A.A., Shershakova N.N., Kamyshnikov O.Y., Babakhin A.A., Zverev V.V., Johnston S.L., Khaitov R.M. Small interfering RNAs targeted to interleukin-4 and respiratory syncytial virus reduce airway inflammation in a mouse model of virus-induced asthma exacerbation. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25(7): 642-650. DOI: 10.1089/hum.2013.142
 9. Bem R.A., Domachowske J.B., Rosenberg H.F. Animal models of human respiratory syncytial virus disease. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2011; 301(2): L148-156. DOI: 10.1152/ajplung.00065.2011
 10. Moldoveanu B., Otmishi P., Jani P., Walker J., Sarmiento X., Guardiola J., Saad M, Yu J. Inflammatory mechanisms in the lung. *J. Inflamm. Res.* 2009; 2: 1-11.
 11. Allie S.R., Randall T.D. Pulmonary immunity to viruses. *Clin. Sci. (Lond.)* 2017; 131(14): 1737-1762. DOI: 10.1042/CS20160259

Сведения об авторах:

Емельянова Александра Геннадиевна – научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Тарасов Сергей Александрович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологически активных веществ Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Морозов Сергей Георгиевич – доктор медицинский наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Правила для авторов

К публикации в журнале «Патогенез» принимаются ранее не опубликованные работы по профилю журнала: теоретические и обзорные статьи, результаты завершенных оригинальных исследований, краткие сообщения.

Все присланные материалы проходят проверку на плагиат и самоплагиат. Наличие плагиата является основанием для безусловного отказа в опубликовании. Мультиплицирование собственных данных не допускается.

Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи, посвященные исследованиям, выполненным с нарушением этических норм и правил, и норм гуманного обращения с биообъектами.

В статьях, публикуемых журналом «Патогенез», обязательна статистическая обработка количественных данных. В разделе «Материалы и методы исследования» должно присутствовать описание статистических методов, указан статистический пакет, применявшийся при обработке результатов, и номер его версии. Выбор статистических критериев и алгоритмов должен быть обоснован в тексте статьи. Использование параметрических методов должно быть аргументировано результатами проверки выборок на нормальность распределения. В случае использования непараметрических критериев данные в тексте, таблицах и на рисунках представляются в виде медианы и межквартильного размаха.

Решение о публикации принимается редколлегией журнала после рецензирования рукописи с учетом научной значимости и актуальности представленных материалов. Статьи, отклоненные редакционной коллегией, повторно не принимаются и не рассматриваются.

Статья должна быть написана на русском или английском языке, в формате любой версии текстового редактора MS Word, и прислана в электронном виде на e-mail редакции patoniiorp2017@yandex.ru. Статья должна сопровождаться направлением (сопроводительным письмом) от учреждения, где была выполнена научная работа.

Рекомендуемый объем полного текста рукописи (оригинальные исследования, лекции, обзоры), включая резюме, таблицы и список литературы, не должен превышать 6000 слов. Объем статей, посвященных описанию клинических случаев, не более 4000 слов; краткие сообщения и письма в редакцию – в пределах 1500 слов.

Формат текста рукописи. Текст должен быть напечатан шрифтом Times New Roman, иметь размер 12 pt и межстрочный интервал 1,5 pt. Отступы с каждой стороны страницы 2 см. **Файл с текстом статьи** должен содержать всю информацию для публикации (в том числе рисунки с подписями и таблицы с заглавием). Структура рукописи должна соответствовать **шаблону**:

УДК

Название статьи.

Авторы статьи. При написании авторов статьи фамилию следует указывать до инициалов имени и отчества (Иванов П.С., Петров С.И., Сидоров И.П.)

Название учреждения. Необходимо привести официальное ПОЛНОЕ название учреждения (без сокращений) и адрес электронной почты для контактов с авторами. Если в написании рукописи принимали участие авторы из разных учреждений, необходимо соотнести названия учреждений и ФИО авторов путем добавления цифровых индексов в верхнем регистре перед названиями учреждений и фамилиями соответствующих авторов.

Резюме статьи должно быть (если работа оригинальная) структурированным: актуальность, цель, материалы и мето-

ды, результаты, выводы. Резюме должно полностью соответствовать содержанию работы. Объем текста резюме должен быть в пределах 100 – 300 слов.

Ключевые слова. Необходимо указать ключевые слова – от 3 до 10, способствующих индексированию статьи в поисковых системах.

Название статьи, авторы, научные учреждения, резюме и ключевые слова дублируются на английском языке.

Полный текст статьи должен быть структурированным по разделам. Структура полного текста рукописи, посвященной описанию результатов оригинальных исследований, должна соответствовать общепринятому шаблону и содержать разделы: введение (актуальность), цель и задачи, материалы и методы (пациенты и методы), результаты, выводы, обсуждение (дискуссия).

Список литературы. В списке литературы все работы перечисляются в порядке цитирования, а НЕ в алфавитном порядке. Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях и лекциях допускается до 20, в обзорах – до 60 источников, в кратких сообщениях – не более 8. Не допускаются ссылки на диссертации и авторефераты диссертаций, ссылки на материалы конференций нежелательны. В тексте статьи ссылки на источники приводятся в квадратных скобках арабскими цифрами. В библиографическом описании каждого источника должны быть представлены ВСЕ АВТОРЫ. Недопустимо сокращать название статьи. Название англоязычных журналов следует приводить в соответствии с каталогом названий базы данных MedLine. Если журнал не индексируется в MedLine, необходимо указывать его полное название. Названия отечественных журналов сокращать нельзя.

При ссылке на журнальные статьи (наиболее частый источник информации для цитирования) следует придерживаться **шаблона**:

При ссылке на статью: Автор А.А., Соавтор Б.Б. Название статьи. *Название журнала* Год; Том(Номер): стр.-стр. При наличии указать DOI. Пример: Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *NEJM* 2002; 347(4): 284-287. DOI: 10.1056/NEJMs020632

При ссылке на книгу: Автор А.А. *Название книги*. Город (где издана): название издательства; год издания. Пример: Paxinos G., Watson Ch. *The rat brain in the stereotaxic coordinates*. N.Y.: Academic Press, 1982.

При ссылке на патент: Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. *Лекарственная пленка пролонгированного действия, способ изготовления и способ её применения*. Патент РФ 2445074; 2012.

Для электронных изданий указывается дата обращения в формате дд.мм.гггг (на русском языке: Дата обращения 07.07.2017; на английском языке: Retrieved: 07.07.2017).

References. Список литературы, имеющий русскоязычные источники, в обязательном порядке переводится на английский язык (References). При этом названия статей на русском языке переводятся на английский и даются в квадратных скобках, названия журналов даются в транслитерации, и переводятся на английский язык. В конце пишется (in Russian). Пример:

Grier K., Ressel L. [The investigation of the sensorimotor feedback performance in obese and normal-weight teenagers during physical activity]. *Lechebnaya fizkul'tura i sportivnaya meditsina [Exercise therapy and Sports Medicine]*. 2013; 1(109): 30-36. (In Russian)

С шаблоном оформления статей можно ознакомиться на сайте журнала «Патогенез» <http://pathogenesis.pro/index.php/pathogenesis>.

Материалы, оформленные не по правилам, к рассмотрению не принимаются.