

Удк 616.-001.36-02:616.94-092

## **Роль регуляторных пептидов в механизмах повреждения центральной нервной системы при эндотоксемии**

**Н.Г. Харланова, Ю.М. Ломов, Э.А. Бардахчян**

Научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

Патогенез граммотрицательного септического шока рассматривается с позиций нового класса пептидов - цитокинов, инициирующих и опосредующих токсичность молекулы липополисахарида. В механизмах церебральных расстройств при септицемии цитокины считаются ключевыми медиаторами, т.к. головной мозг, наряду с другими органами, является местом активного их синтеза. Считается, что основа будущих неврологических расстройств при эндотоксемии в эксперименте и клинике формируется вначале на молекулярном уровне и затем проявляется в виде морфологического субстрата на ультраструктурном уровне. При неблагоприятном стечении обстоятельств прогрессирование процесса может привести к развитию клинической картины острой церебральной недостаточности или шокового мозга.

В настоящее время наиболее тяжелым осложнением сепсиса является септический шок (СШ), летальность при котором достигает более 80% [42]. В свете последних данных патогенез граммотрицательного СШ рассматривается с позиций нового класса пептидов - цитокинов, инициирующих и опосредующих токсичность молекулы липополисахарида (ЛПС). Существует мнение, что именно неконтролируемый дисбаланс цитокинов и их ингибиторов является стимулом к развитию СШ [22, 24]. Среди них наиболее важными цитокинами в генезе развития органных повреждений при эндотоксиновом шоке (ЭШ) и СШ являются фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкины (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6) [21]. Принципиально, что эти же пептиды индуцируют синтез других медиаторов - хемотаксических цитокинов, простагландинов (Пг), лейкотриенов (Лт), адгезионных молекул, окиси азота, протеаз и, по существу, выступают в роли факторов аутокринной регуляции, обуславливая каскадный характер продукции различных биологически активных соединений [25, 35]. Патогенетически значимые цитокины ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 обладают цитотоксичностью, пирогенными свойствами, стимулируют печень к выработке острофазных белков в том числе, ЛПС-связывающего белка, маннозосвязывающего белка и амилоида А, образование которых увеличивается в сотни и тысячи раз под воздействием цитокинов [34].

Комплекс взаимодействий между цитокинами и клетками некоторыми авторами рассматривается как цитокиновая сеть и может иметь характер стимуляции или ингибирования [44]. При ЭШ и СШ следствием синтеза этих медиаторов

является нарушение функций сердечно-сосудистой системы, блокада микроциркуляции печени, почек, легких, кишечника, т.е. формирование полиорганной недостаточности, что в большинстве случаев заканчивается смертью [2, 3, 6, 10, 11, 12, 14, 15, 29].

Результаты наших исследований свидетельствует о том, что развитие ЭШ сопровождается повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) и проникновением в мозг крупных молекулярных соединений [1,4,5, 13]. Характер рецепторно-лигандных взаимоотношений в структурах центральной нервной системы (ЦНС) одинаков для различных лигандов и подтверждается в наших опытах с некоторыми психотропными препаратами [7,8,9]. В пользу проникновения молекул ЛПС через тканевые барьеры свидетельствуют многочисленные данные определения эндотоксина с помощью лимулос амебоцитного лизата (ЛАЛ-теста) в субстратах от животных и больных при ЭШ и СШ [41].

В механизмах церебральных расстройств при ЭШ цитокины считаются ключевыми медиаторами [22]. Головной мозг, наряду с другими органами, является местом активного синтеза цитокинов [32, 30]. В свою очередь, в мозге цитокины, наряду с эндотоксином, обладают способностью инициировать синтез iNOS – (цитокин-индуцибельной синтазы окиси азота), с последующей продукцией окиси азота (NO) в клетках [32, 45]. Известно, что в ЦНС NO выступает как медиатор нейротоксичности, образует свободнорадикальный пероксинитрит, и, кроме того, служит нейромодулятором в качестве сигнальной молекулы при нейрореперечате и регуляции тонуса сосудов [31].

При септицемии в патогенезе нарушения функций ЦНС особая роль принадлежит ИЛ-1 $\beta$ , которые в эксперименте можно воспроизвести инъекцией экзогенного ИЛ-1 $\beta$  а введение антагонистов к нему полностью нивелирует эти расстройства [45]. Внутрибрюшинное или внутривенное введение ЛПС инициирует синтез ИЛ-1 $\beta$  в многочисленных структурах мозга - менингеальных оболочках, хориоидном сплетении, околожелудочковых областях, коре больших полушарий и гипоталамусе, клетках микроглии и макрофагах [38]. Это объясняется синхронным транспортом молекул ЛПС проникающих через ГЭБ и гематоликворный барьер (ГЛБ) из системного кровотока в соответствующие отделы головного мозга. Показано, что при периферическом способе введения эндотоксина, перенос его молекул в хориоидном сплетении и прилежащих структурах происходит в направлении от эпендимных клеток третьего желудочка или таницитов срединного возвышения к нейронам [1, 4, 45]. Одновременно ЛПС, пенетрируя ГЭБ, активирует синтез ИЛ-1 $\beta$  в сосудистых стенках и глии. Интересно, что в ЦНС при септицемии экспрессия генов, кодирующих ИЛ-1 $\beta$ , намного выше экспрессия генов, кодирующих цитокины ИЛ-10, ИЛ-13, которые ингибируют эффекты ИЛ-1 $\beta$  [45].

В микроглии максимальный уровень синтеза ИЛ-1 $\beta$  регистрируется намного позже, чем в нейронах после инъекции эндотоксина [38]. Кроме того, при

внутривенном введении эндотоксина количество ИЛ-1 $\beta$  позитивных клеток микроглии выше, чем при внутрибрюшинном, и обнаруживаются в виде периваскулярного конгломерата, причем ИЛ-1 $\beta$  чаще регистрируется непосредственно в цитоплазме клеток, а не в эндоплазматическом ретикулуме или аппарате Гольджи. По мнению исследователей, внутривенное введение эндотоксина, инициируя синтез ИЛ-1 $\beta$ , как бы «маркирует» соседние или удаленные клетки-мишени (нейроны, эндотелиальные клетки, микроглию) [38].

В условиях повышенной проницаемости ГЭБ при ЭШ создаются предпосылки проникновения эндотоксина из сосудов и в астроцитарные отростки [5, 15]. Известно, что астроциты, подобно моноцитам, способны представлять антиген (в данном случае эндотоксин) и являются источником усиленного синтеза ИЛ-1 $\beta$  в мозге [43]. И хотя на астроцитах отсутствует специфический для эндотоксина мембранно-связанный рецептор CD14, связывание ЛПС с клеткой осуществляется с помощью растворимого рецептора CD14 и пока еще не установленного белка, ассоциированного с мембраной [43]. Кроме ИЛ-1 $\beta$ , астроциты синтезируют ряд других цитокинов; добавление ЛПС к культуре мышечных астроцитарных клеток инициирует синтез ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, что приводит к их ультраструктурной перестройке [33]. Антитела к ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 частично ингибируют повреждения астроцитов [27], но если они все же произойдут, то расстройства микроциркуляции усиливаются [26]. Необходимо отметить, что местом активного синтеза медиаторов при эндотоксемии является также и сосудистый эндотелий мозга [18].

В последние годы получены новые данные об эндогенном образовании биологически активных субстанций при ЭШ непосредственно в области сосудистых сплетений [36, 28]. Так, ФНО- $\alpha$ , почти сразу после внутривенного введения эндотоксина начинает синтезироваться в эпендиме и сосудистых сплетениях, а еще через несколько минут регистрируется в цереброспинальной жидкости [36]. У крыс, получавших эндотоксин в дозе 3 мг/100 г, ФНО- $\alpha$  спустя минуты выявляется в области сосудистых сплетений, электронно-микроскопически регистрируется отек эндотелиоцитов и увеличение межклеточных пространств между ними и эпендимоцитами [28]. Авторы полагают, что расстройства ГЭБ, ГЛБ и ликворэнцефалического барьера, а также отек мозга обусловлены эффектами ФНО- $\alpha$ , транспортирующегося от места активного синтеза (эпендима) к другим структурам мозга.

При внутрицистернальном введении эндотоксина у крыс обнаруживаются лишь временные различия в синтезе цитокинов (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6) в коре, гипоталамусе, гиппокампе, полосатом теле и в висцеральных органах [17].

При попадании эндотоксина в спинномозговую жидкость гипоталамическая область и расположенные по соседству сосудодвигательный и дыхательный центры могут стать объектом его воздействия. При раздражении эндотоксином термочувствительных нейронов переднего гипоталамуса и ствола мозга, как

правило, возникает гипертермическая реакция, причем пирогенный эффект реализуется с участием эндогенных пирогенов, в том числе и цитокинов, синтезирующихся в мозге [23]. В частности в опытах на крысах, получавших эндотоксин, методами гибридизации *in situ* и иммунной цитохимии доказана локализация иммунореактивного ИЛ-1 $\beta$  в гипоталамусе [23].

Кроме того, ИЛ-1 $\beta$ , секретируемый клетками системы мононуклеарных фагоцитов в ответ к эндотоксину, также участвует в терморегуляции; пирогенная реакция на ЛПС у крыс значительно редуцируется после элиминации периферических макрофагов [19]. Изменение терморегуляции, опосредуемое синтезом цитокинов, зависит и от дозы эндотоксина [37]. По данным исследователей, другим медиатором центрального действия в генезе жара и лихорадки при ЭШ является простагландин ПГЕ2 [16].

Поиск профилактики и лечения функциональных расстройств ЦНС при СШ и септицемии диктуют использование не только антител к ЛПС или цитокинам, но и применение цитокинов-антагонистов [20]. Внутрицистернальное введение мышам ИЛ-10 (75 нг) и ЛПС (2,5 мкг) почти полностью ингибируют продукцию ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  в мозге. С другой стороны, внутрицистернальное введение антител к ИЛ-10 (JES5-2A5, 60 мкг) потенцирует синтез ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  [20].

Таким образом, основа будущих неврологических расстройств при эндотоксемии в эксперименте и клинике формируется вначале на молекулярном уровне и затем проявляется в виде морфологического субстрата на ультраструктурном уровне. При неблагоприятном стечении обстоятельств дальнейшее прогрессирование процесса может привести к развитию развернутой клинической картины острой церебральной недостаточности или шокового мозга.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бардахчян Э.А., Харланова Н.Г. // Физиол. журн. 1991. Т. 37. № 5. С. 41.
2. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г. // Пат. физиол. 1995. № 1. С. 46.
3. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г. // Пат физиол. 1997. № 1. С. 17.
4. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г. // Цитология и генетика. 1997. Т. 31. № 1. С. 5.
5. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г., Ломов Ю.М. // Цитология и генетика. 1997. Т. 31. № 6. С. 11.
6. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г., Ломов Ю.М. // Пат. физиол. 1999. № 3. С. 22 .

7. Бардахчян Э.А., Харланова Н. Г., Макляков Ю.С. // Бюлл. экспер. биол. 1996.Т. 122. № 10. С. 457 .
8. Бардахчян Э.А., Макляков Ю.С., Каркищенко Н.Н., Харланова Н.Г. // Эксп. клин. фармакол. 1992. Т. 55. № 2. С. 6 .
9. Бардахчян Э.А., Макляков Ю.С., Харланова Н.Г., Куликова О.Н. // Нейрохимия. 1992. Т. 11. № 1. С. 72 .
10. Харланова Н.Г., Бардахчян Э.А. // Анест. и реаниматол. 1991. № 4. С. 37 .
11. Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Бардахчян Э.А. // Анест. реаниматол. 1993. № 2. С. 24 .
12. (Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Бардахчян Э.А.) Kharlanova N.G., Lomov Yu.M., Bardakhchian E.A // In: The 4-th Eur. Congr. Cell Biol. 1994. Prague. P. 68.
13. Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Бардахчян Э.А. // Анест. реаниматол. 1994. № 3. С. 36 .
14. Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Бардахчян Э.А // Бюлл. экспер. биол. 1995. Т. 120. № 7. С. 107 .
15. Харланова Н.Г. Закономерности биологического действия эндотоксина *E. coli* на ультраструктуру органов-мишеней.: Автореф. дисс. ... докт биол. наук. М., 2001.
16. Bishai I., Coceani F. // Cytokine. 1996. V. 8. N 5. P. 371.
17. De Simoni M.G., Del Bo R., De Luigia A., Simard S. // Endocrinology. 1995. V. 136. N 3. P. 897.
18. De Vries H.E., Bloom-Roosemalen M.C., de Boer A.G. et al. // J. Pharmac. Exp. Therap. 1996. V. 277. N 3. P. 1418.
19. Derijk R.H., Strijbos P.J., van Rooijen N. et al. // Am. J. Physiol. 1993. V. 265. N5. P. 1179.
20. Di Santo E., Sironi M., Pozzi P. et al. // Neuroimmunomodulation. 1995. V. 2. N 3. P.149.
21. Freudenberg M., Ness T., Kumazawa Y., Galanos C. // Immun. und Infect.1993. V. 21. N 2. P. 40.
22. Galanos C. // Shock. 1998. V. 6. N 7. P. 605.
23. Hagan P., Poole S., Bristow A. F. // J. Mol. Endocrinol. 1993. V. 11. N. 1. P. 31.
24. Henderson B. // Microbiol. Rev. 1996. V 60. N 2. P 316.
25. Hinshaw L.B. // Crit. Care Med. 1996. V 24 N 6. P. 1072.
26. Holash H.A., Noden D.M., Stewart P.A. // Develop. Dyn. 1993. V. 197 N 1. P. 14.
27. Hu S., Martella A., Anderson W., Chao C. // Uniq. Lab. Invest. 1994. V. 70. N 6. P. 850.

28. Liu L., Kita T., Tanaka N., Kinoshita Y. // Intern. J. Exp. Pathol. 1996. V. 77. N 1. P. 37.
29. Parrilo J.E. // N. Engl. J. Med. 1993. V 328. P. 1471.
30. Pitossi F., del Rey A., Kabiersch A., Besedovsky H. //J. Neurosci. Res. 1997. V. 48. N. 2. P. 287.
31. Pronai L., Szaleczky E., Feher J. // Orvosi Hetilap. 1996. V. 137. N. 31. P. 1699.
32. Romero L.I., Tatro J.B., Field J.A., Reichlin S. //Am. J. Physiol. 1996. V. 270. N 2. P. 326.
33. Sharif S.F., Hariri R.J, Chang V.A. et al. // Neurol. Res. 1993. V. 15. N 2. P. 109.
34. Staudinger T., Presterl E., Graninger W. et al. // Intens. Care Med. 1996. V. 22. N 9. P. 888.
35. Sutton E.T., Norman J.G., Newton C.A. et al. // Shock. 1997. V. 7. N 2. P. 105.
36. Tarlow M.J., Jenkins R., Comis S.D. et al // Neuropathol. Appl. Neurobiol. 1993. V. 19. N 4. P. 324.
37. Tilders F.J., DeRijk R.H., Van Dam A.M. et al. //Psychoneuroendocrinology. 1994. V. 19. N. 2. P. 209.
38. Van Dam A.M., Bauer J., Tilders F.J., Berkenbosch F. // Neuroscience. 1995. V. 65. N 3. P. 815.
39. van Dam A.M., Brouns M, Man-A-Hing W, Berkenbosch F. // Brain Res. 1993. V. 613. N 2. P. 231.
40. Wang J., Kester M., Dunn M.J. // Biochem. Biophys. Acta. 1988. V. 69. N 3. P. 217.
41. Williams A.E., Blakemore W.F. // J. Infect. Dis. 1990. V. 162. N 2. P. 478.
42. Wang Y., Hollingsworth R.I. // Biochemistry. 1996. V. 35. N 18. P. 5647.
43. Willis S.A, Nissen P.D. // J. Immunol. 1995. V. 154. N 3. P. 1399.
44. Wilson M., Seymour R., Henderson B. // Infect. Immun. 1998. V. 66. N 6. P. 2401.
45. Wong M.L., Bongiorno P.B., Rettori V. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 94. P. 227.

**Role regulatory peptides in mechanisms of central nervous system alterations in septicemia**

**N.G. Kharlanova, Yu. M. Lomov, E.A. Bardakhchyan**

The gramnegative septic shock is mediated by complex interactions of endotoxin with cells and its mediators action - cytokines. Endotoxin-stimulates production cytokines - tumour necrosis factor -alpha, interleukin -1 beta, and IL-6 in the human central nervous system. Experimental and clinical studies focusing on the activities of cytokines have contributed in understanding of the pathogenes cerebral alterations in septicemia.

УДК 618. 1: 616. 992. 282-02-036.12 -08.08

**О значении нарушений иммунного статуса в патогенезе хронического рецидивирующего генитального кандидоза**