

# МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ТОМ 14  
2014 № 4

ISSN 1608-4101



# МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

**№ 4**

**ТОМ 14**

**2014**

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

**Северо-Западное отделение Российской академии медицинских наук  
Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН  
Балтийский медицинский образовательный центр**

**Главный редактор:**  
академик РАН *Г. А. Софронов*

**Заместитель главного редактора:**  
академик РАН *Н. А. Беляков*

**Ответственный секретарь:**  
доктор биологических наук *А. В. Дмитриев*



**Адрес:** 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., д. 71,  
Северо-Западное отделение Российской академии медицинских наук,  
Редколлегия журнала «Медицинский академический журнал»  
Тел.: (812) 407-83-43; факс: (812) 407-83-37

e-mail: [medicalacademicjournal@gmail.com](mailto:medicalacademicjournal@gmail.com); [infeklcijaids@gmail.com](mailto:infeklcijaids@gmail.com)

Журнал зарегистрирован Территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области  
Министерства РФ по делам печати, телевидения и средств массовой коммуникации.  
Свидетельство о регистрации ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

#### **Редакционная коллегия:**

**Э. К. Айламазян** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**С. Ф. Багненко** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**В. Б. Васильев** — профессор, Санкт-Петербург  
**В. Р. Вебер** — член-корреспондент РАН, Великий Новгород  
**И. П. Дуданов** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**С. А. Кетлинский** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Ю. В. Лобзин** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**В. И. Мазуров** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**Н. А. Майстренко** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**А. О. Марьяндышев** — член-корреспондент РАН, Архангельск  
**А. С. Симбирцев** — профессор, Санкт-Петербург  
**А. Г. Софронов** — профессор, Санкт-Петербург  
**А. Н. Суворов** — профессор, Санкт-Петербург  
**А. А. Тотолян** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**Т. Н. Трофимова** — профессор, Санкт-Петербург

#### **Редакционный совет:**

**А. Г. Баиндурашвили** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**В. С. Баранов** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Б. В. Гайдар** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**А. М. Гранов** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**А. Я. Гриненко** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**А. Б. Жебрун** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**О. И. Киселев** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**Е. А. Корнева** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**С. В. Лобзин** — профессор, Санкт-Петербург  
**В. А. Медик** — член-корреспондент РАН, Великий Новгород  
**М. М. Одинак** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Л. В. Поташов** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Н. С. Сапронов** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**А. А. Скоромец** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**П. И. Сидоров** — академик РАН, Архангельск  
**С. А. Симбирцев** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Р. М. Тихилов** — профессор, Санкт-Петербург  
**П. Д. Шабанов** — профессор, Санкт-Петербург  
**А. В. Шабров** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**Е. В. Шляхто** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**В. Х. Хавинсон** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург  
**Н. А. Яицкий** — академик РАН, Санкт-Петербург  
**Ю. К. Янов** — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург

---

# MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

**№ 4**

**Vol. 14**

**2014**

---

THE OFFICIAL PUBLICATION OF THE NORTHWEST BRANCH OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES  
SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

**North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences  
Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the Russian Academy  
of Medical Sciences  
Baltic Medical Educational Center**

**Editor in Chief:**

*G. A. Sofronov*

Full Member of the Russian Academy of Sciences

**Deputy Editor in Chief:**

*N. A. Belyakov*

Full Member of the Russian Academy of Sciences

**Executive Secretary:**

*A. V. Dmitriev*

Doctor of Biological Sciences



**Address:** 197022, St. Petersburg, Kamennooostrovskiy, 71,  
North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences,  
Editorial board «Medical academic journal»  
Tel.: (812) 407-83-43; fax: (812) 407-83-37

e-mail: [medicalacademicjournal@gmail.com](mailto:medicalacademicjournal@gmail.com); [infeklcijaids@gmail.com](mailto:infeklcijaids@gmail.com)

### **Editorial Board**

- E. K. Ailamazian**, full member of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint-Petersburg  
**S. F. Bagnenko**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**I. P. Dudanov**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**S. A. Ketlinskiy**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**Yu. V. Lobzin**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**V. I. Mazurov**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**N. A. Maistrenko**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. O. Maryandyshev**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. S. Simbirtsev**, professor, Saint-Petersburg  
**A. G. Sofronov**, professor, Saint-Petersburg  
**A. N. Suvorov**, professor, Saint-Petersburg  
**A. A. Totolyan**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**T. N. Trofimova**, professor, Saint-Petersburg  
**V. B. Vasiliev**, professor, Saint-Petersburg  
**V. R. Veber**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Velikiy Novgorod

### **Editorial Council**

- A. G. Baidurashvili** — corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**V. S. Baranov**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**B. V. Gaidar**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. M. Granov**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. Ya. Grinenko**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. B. Zhebrun**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**O. I. Kiselev**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**Ye. A. Korneva**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**S. V. Lobzin**, professor, Saint-Petersburg  
**V. A. Medic**, corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, Velikiy Novgorod  
**M. M. Odinak**, corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, Saint-Petersburg  
**L. V. Potashov**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**N. S. Sapronov**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**A. A. Skoromets**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**P. I. Sidorov**, full member of the Russian Academy of Sciences, Архангельск  
**S. A. Simbirtsev**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**R. M. Tikhilov**, professor, Saint-Petersburg  
**P. D. Shabanov**, professor, Saint-Petersburg  
**A. V. Shabrov**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**Ye. V. Shlyakhto**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**V. H. Khavinson**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**N. A. Yaitsky**, full member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg  
**Yu. K. Yanov**, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg

## СОДЕРЖАНИЕ

## ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

- ВОСПОМИНАНИЯ ОБ УЧИТЕЛЕ. ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ БИРЮКОВ  
В ЛЕНИНГРАДЕ .....7  
*В. И. Климова-Черкасова*

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- ЕЛЕНЕ КОРНЕВОЙ – ПИОНЕРУ НЕЙРОИММУНОЛОГИИ,  
В ДЕНЬ ЕЕ 85-ЛЕТИЯ ПОСВЯЩАЕТСЯ .....19  
*Иштван Берци*

- ПРИМЕНЕНИЕ ВИДЕОКОМПЬЮТЕРНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ  
ПО КОЖНО-ГАЛЬВАНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ БОРЬБЫ  
СО СТРЕССОМ И УЛУЧШЕНИЯ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА .....33  
*О. Н. Вовк, Ю. В. Балабанов, Ю. Ю. Вакуленко, В. М. Клименко*

- МОЙ ДРУГ Е. А. КОРНЕВА И РОССИЯ. ВПЕЧАТЛЕНИЯ И ВОСПОМИНАНИЯ .....38  
*Тошихико Катафучи*

- АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КРОВИ ПРИ ОСТРОМ  
И ХРОНИЧЕСКОМ НАРУШЕНИИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ .....41  
*Ю. И. Степанова, Ю. М. Гармаза, Е. И. Слобожанина, В. С. Камышников,  
Г. П. Зубрицкая, А. Г. Кутько*

- СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВОСПАЛЕНИИ  
В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ .....49  
*Наото Каваками, Хартмут Векерле*

- КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ  
ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ  
ТРАВМЕ И ПОПЫТКА ЛЕЧЕНИЯ .....55  
*Е. Г. Рыбакина, С. Н. Шанин, Е. Е. Фомичева, Т. А. Филатенкова, Е. В. Дмитриенко*

- ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СТРЕСС-РЕАКЦИИ У КРЫС ПРИ  
СТРЕССИРУЮЩЕМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ  
АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ДЕФЕНСИНА RATNP-3 .....63  
*И. А. Янкелевич, Г. М. Алешина, В. Н. Кокряков*

- МИКРОГЛИЯ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА .....68  
*Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, М. А. Сырцова*

- ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ  
РЕЦЕПТОРОВ К ОРЕКСИНАМ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПА (OxR1 и OxR2)  
В КЛЕТКАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ .....73  
*Н. С. Новикова, С. В. Перекрест, К. Э. Шаинидзе, В. А. Мазина, А. Д. Штейнцвайг,  
академик РАН Е. А. Корнева*

- РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ  
ЗАБОЛЕВАНИЙ У ТРУДОВЫХ МИГРАНТОВ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ .....79  
*А. Г. Софронов, А. Е. Добровольская, В. Э. Пашковский, В. П. Чащин,  
М. В. Чащин, Л. П. Зуева, Б. И. Асланов, А. Е. Гончаров*

- ЮБИЛЕИ .....84

## CONTENTS

**HISTORY MEDICINE**

- MEMOIRS ABOUT THE TEACHER.DMITRY A. BIRUKOV IN LENINGRAD .....7  
*V. I. Klimova-Cherkasova*

**ORIGINAL ARTICLES**

- A TRIBUTE TO ELENA KORNEVA, A PIONEER OF NEUROIMMUNE BIOLOGY,  
 ON HER 85<sup>TH</sup> BIRTHDAY .....19  
*Istvan Berczi*
- THE APPLICATION OF VIDEOCOMPUTER FEEDBACK BY GSR  
 TO FIGHT STRESS AND IMPROVE PSYCOLOGICAL INDICATORS  
 OF HUMAN HEALTH .....33  
*O. N. Vovk, Y. V. Balabanov, Y. Y. Vakulenko, V. M. Klimenko*
- MY FRIEND DR. H. KORNEVA AND RUSSIA .....38  
*Toshihiko Katafuchi*
- BLOOD ANTIOXIDANT STATUS AT ACUTE AND CHRONIC DISORDER  
 OF CEREBRAL CIRCULATION .....41  
*J. I. Stepanova, Yu. M. Garmaza, E. I. Slobozhanina, V. S. Kamyshnikov,  
 G. P. Zubritskaya, A. G. Kutko*
- VIEWING INTO THE CNS INFLAMMATION .....49  
*Naoto Kawakami, Hartmut Wekerle*
- CELL-MOLECULAR MECHANISMS OF PROTECTIVE FUNCTION'S CHANGES  
 UNDER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND WAYS FOR IT'S MEDICATION .....55  
*E. G. Rybakina, S. N. Shanin, E. E. Fomicheva, T. A. Filatenkova, E. V. Dmitrienko*
- SOME FEATURES OF THE STRESS REACTION IN RATS AFTER  
 EXPOSURE TO STRESS AND ADMINISTRATION OF ANTIMICROBIAL  
 PEPTIDE DEFENSIN RATNP-3 .....63  
*I. A. Yankelevich, G. M. Aleshina, V. N. Kokryakov*
- MICROGLIA OF THE HUMAN SUBSTANTIA NIGRA .....68  
*D. E. Korzhevskii, O. V. Kirik, E. G. Sukhorukova, M. A. Syrszova*
- LPS-INDUCED GENE EXPRESSION CHANGES OREXIN RECEPTOR  
 TYPES I AND II (AND O<sub>x</sub>R1 O<sub>x</sub>R2) IN CELLS OF THE CENTRAL  
 NERVOUS SYSTEM .....73  
*N. S. Novikova, S. V. Perekrest, K. Z. Shainidze, V. A. Masina, A. D. Steinzeig,  
 academician RAS E. A. Korneva*
- PREVALENCE OF SOCIALLY SIGNIFICANT INFECTIONS AMONG  
 MIGRANT WORKERS IN ST. PETERSBURG .....79  
*A. G. Sofronov, A. E. Dobrovolskaia, V. E. Pashkovsy, V. P. Chashchin,  
 M. V. Chashchin, L. P. Zueva, B. I. Aslanov, A. E. Goncharov*
- JUBILEE** .....84

# ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

УДК 61(09)

## ВОСПОМИНАНИЯ ОБ УЧИТЕЛЕ. ДМИТРИЙ АНДРЕЕВИЧ БИРЮКОВ В ЛЕНИНГРАДЕ

*В. И. Климова-Черкасова, Санкт-Петербург, Россия*

## MEMOIRS ABOUT THE TEACHER. DMITRY A. BIRUKOV IN LENINGRAD

*prof. V. I. Klimova-Cherkasova, St. Petersburg, Russia*

© В. И. Климова-Черкасова, 2014 г.

Статья посвящена интересному ученому, выдающемуся организатору науки, создателю принципиально нового научного направления — экологической физиологии. Д. А. Бирюков оставил о себе память как об умном, добром и интеллигентном педагоге, ученом, администраторе. Его уважали, почитали, любили. Автор статьи — ученица Дмитрия Андреевича, Заслуженный деятель науки РСФСР, профессор, доктор медицинских наук, 30 лет бывшая рядом с ним.

**Ключевые слова:** Дмитрий Андреевич Бирюков, экологическая физиология, Институт экспериментальной медицины.

The article is devoted to the interesting scientist, the outstanding science organizer, the creator of the new science direction in principle — ecological physiology. D. A. Birukov had leaved in memory as clever, kind and intelligent teacher, scientist, manager. He had been respected, honoured, loved. The author of the article is student of Dmitry Birukov. She is honoured worker of science, professor, doctor of medical science, who was nearby D. Birukov for 30 years.

**Key words:** Dmitry Andreevich Birukov, ecological physiology, Institute of Experimental Medicine.

В 2014 году Институт экспериментальной медицины (ИЭМ) отметил 110-летие со дня рождения академика Дмитрия Андреевича Бирюкова. Он родился 20 июля 1904 года в Новочеркасске в семье полковника казачьих войск. Ученик ростовского физиолога профессора, академика АМН СССР Николая Апполинарьевича Рожанского (1894–1957). В 1930-е годы работал у академика И. П. Павлова. Был директором Воронежского государственного медицинского института (ВГМИ, 1945–1949) и директором ИЭМ в течение 19 лет: с мая 1950 вплоть до кончины 8 января 1969 года.

Дмитрий Андреевич Бирюков — доктор медицинских наук, профессор, действительный член АМН СССР, получил известность как автор оригинальных исследований в области сравнительной эволюционной физиологии и основатель нового научного направления — экологической физиологии. Будучи крупным ученым и талантливым педагогом, он вырастил большую группу значимых для нашей науки докторов и кандидатов наук [1].

Для меня, как и для всех, кто попадал под его опеку, особенно со студенческих лет, Дмитрий Андреевич, прежде всего — Учитель. Его уважали, почитали, любили как человека умного, доброго, интеллигентного. Он всегда и везде проявлял себя

талантливым администратором. Мне посчастливилось узнать его еще в последние годы Великой Отечественной войны, когда, вернувшись из эвакуации, я поступила в ВГМИ, а он стал заведовать кафедрой нормальной физиологии. Уже в начале 1945 года я слушала лекции профессора по курсу физиологии, а затем, после его приглашения — как член студенческого научного кружка. С этого времени и до конца работы в ИЭМ мы с подругами Валентиной Васильевной Петелиной (1926–1988) и Верой Игоревной Савчук (р. 1926) планомерно получали от Учителя навыки исследовательской работы, сначала став аспирантами, а потом научными сотрудниками. Еще в Воронеже Дмитрий Андреевич предоставил нам возможность наряду с обучением врачебному делу проникнуть в суть физиологической науки и познать радость первых сведений зарождавшейся тогда экологической физиологии.

Как известно, летом 1950 года проходила Объединенная сессия АН и АМН СССР под флагом «борьбы с иностранщиной» и развития учения И. П. Павлова о высшей нервной деятельности. Дмитрию Андреевичу был поручен доклад с критикой «лженаучной деятельности» академика Л. С. Штерн (1878–1968), арестованной по делу «Еврейского антифашистского комитета». К этому моменту он по

конкурсу занял должность заведующего кафедрой нормальной физиологии II Московского медицинского института им. И. В. Сталина, которой до ареста в 1948 году заведовала Лиина Соломоновна.



**Рис. 1.** Академик АМН СССР, доктор медицинских наук, профессор, Почетный член Карлова университета, Почетный член Чехословацкого медицинского общества им. Я. Пуркине Дмитрий Андреевич Бирюков.

Уже в разгар работы Объединенной сессии двух академий стало известно о новом назначении Д. А. Бирюкова в Ленинград, на должность директора ИЭМ. Предполагалось создание нового отдела во главе с ним. Одновременно ликвидировался отдел цитологии во главе с профессором Дмитрием Николаевичем Насоновым (1895–1957), бывшим одновременно директором ИЭМ. Надо сказать, что как в Москве, так и здесь Дмитрий Андреевич проявил понимание и сочувствие к ученым ликвидированных подразделений.

Во-первых, он распорядился о сохранении рабочего места и необходимого оборудования для продолжения диссертационной работы одной из сотрудниц. Благодаря этому она благополучно завершила исследования. Во-вторых, до этого работавшая там медсестра Мария Дмитриевна и лаборант Нина Титова попросили остаться в прежних качествах (операционной сестры и лаборантки) в организуемой лаборатории. Впоследствии это принесло большую пользу новому отделу. Отдел сравнительной физиологии и патологии высшей нервной деятельности был организован в октябре 1950 года и размещен на упомянутой площади. Позже отдел утвердили в составе

двух лабораторий — одна для исследований в эволюционном ряду животных (мы были определены туда), вторая — с целью изучения патологии высшей нервной деятельности во главе с профессором Людмилой Борисовной Гаккель и тремя сотрудниками-врачами: И. Молотковой, Н. М. Трофимовым и А. Г. Усовым. Они начали работать на базе психоневрологического интерната № 1 на ул. Смольного, д. 4, самого большого в городе.

В течение первых месяцев осени к нам начали присоединяться будущие аспиранты и сотрудники. Сначала из Воронежа приехали окончившая там по клинической специальности ординатуру Тамара Поликарповна Шляфер (1924–2012) и уже два года проработавшая врачом Нина Георгиевна Голева. Затем появилась Ида Гавриловна Карманова (1924–2005), у которой уже был опыт работы по физиологии в Москве у академика Петра Кузьмича Анохина (1898–1974). Она была зачислена на должность младшего научного сотрудника. Кроме того, почти один за другим появились Татьяна Митрофановна Загорулько, Арташес Иванович Карамян (1908–1989), зачисленный на должность старшего научного сотрудника и Алла Владимировна Бару — младший научный сотрудник. Зачисление двоих последних было смелым шагом Дмитрия Андреевича: в результате реорганизации Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР работавшие с академиком Л. А. Орбели оказались «в опале» и остались без работы. Среди них был и А. И. Карамян, уже сложившийся кандидат медицинских наук с почти готовой докторской диссертацией, сотрудник и сторонник Л. А. Орбели и его младший научный сотрудник А. В. Бару. Вскоре Арташес Иванович, нейрохирург Ленинградского фронта, войну закончивший в Берлине, влился в коллектив, и спустя год защитил докторскую диссертацию. За 7 лет работы в качестве старшего научного сотрудника он воспитал несколько кандидатов наук, а в 1959 году стал заведующим лабораторией эволюции ЦНС в открывшемся тогда Институте эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова (ИЭФ). Позднее, в 1970 году его избрали член-корреспондентом АН СССР. Вместе с ним в ИЭФ перешли сначала учившиеся, а затем работавшие у нас Т. М. Загорулько, Татьяна Соллертинская, Николай Петрович Веселкин (р. 1937), позже ставший директором этого института. 1950-е годы остались в памяти как этап «накопления» новых сотрудников и аспирантов. Среди них Виктор Варфоломеевич Фанарджян (1929–2003) Федор Петрович Ведяев, Олег Викторович Богданов (1933–2008) прошедшие аспирантуру с защитой

кандидатских диссертаций. До конца 1950-х годов в отделе работали более 30 человек. Одни приходили в аспирантуру, другие на работу в качестве младших научных сотрудников и старших лаборантов, а также лаборантов-помощников. Лишь некоторые из них позже уехали в Москву (Н. Н. Тимофеев, Г. А. Антропов) или трудились временно, возвращаясь на прежнее место работы (А. Г. Жирмунский, Н. Ф. Майорова, А. Д. Ноздрачев).

В 1950 году Дмитрий Андреевич был избран членом-корреспондентом АМН СССР. Он был главным редактором «Физиологического журнала СССР» и совмещал основную работу с заведованием кафедрой нормальной физиологии в 1-м Ленинградском медицинском институте. Оттуда в 1953–1954 годах пришли аспиранты Елена Андреевна Корнева (р. 1929) и Элеонора Константиновна Шамова (Шхинек, р. 1929), а несколькими годами позже — Николай Николаевич Василевский (1931–1996). Е. А. Корнева и Н. Н. Василевский прошли путь от аспирантов до заведующих отделами ИЭМ.

Успешность формирования расширившегося коллектива в большой мере обязана изменением обстановки в стране после смерти в 1953 году И. В. Сталина. Падение «железного занавеса» значительно сказалось в науке, ряды которой были заметно потрепаны политикой неприятия всего «чуждого» нам зарубежного, включая борьбу с «иностранинкой», и попыткой внедрения «достижений» академика Трофима Денисовича Лысенко (1898–1976) и его последовательницы Ольги Борисовны Лепешинской (1871–1963) с ее «учением» о переходе «неживого» вещества в живое и наоборот, «документально» отраженного в небольшой книге ее ученика Геворга Мнацакановича Бошьяна (1908–1998).

Кадровое укрепление отдела венчало собой развитие идей Дмитрия Андреевича, зародившихся еще несколько лет назад. Для Дмитрия Андреевича, ученого и директора крупного научно-исследовательского института, эти годы были трудными как в организационном плане, так и в моральном. Без участия партийных кругов было невозможным зачисление сотрудников и формирование научно-исследовательской работы. Наряду с партийной организацией «моральный облик» контролировала и спецчасть. Скверным было то, что это находило отклик у завистников-недоброжелателей в самом ИЭМ. Удивительно, как это сносил Дмитрий Андреевич! Еще пытаюсь шутить, он трех особенно активных женщин-членов ВКП(б) (А. А. Манину, Гольшеву, Долинскую) окрестил «трехбабьем». Когда я была рекомендована комсомольским и партийным коллективом в ряды партии, одним из моих

«недостатков» и причиной отказа стала принадлежность к ученикам бывшего дворянина Д. А. Бирюкова. Самого Дмитрия Андреевича неоднократно пытались оскорблять карикатурами в стенгазете «Молния» во время сбора партактива.

После банкета по поводу защиты докторской диссертации А. И. Карамяном в 1951 году к нам прибыла комиссия с допросами о том, что мы пили за столом. Заставили отчитаться в расходах выдаваемого нам на спецнужды государственного спирта. Но ничего «преступного» не нашли. Очевидно, к этому всему партийные органы вынуждала обстановка перед последним сталинским XIX съездом партии 1952 года. Было много терзаний у Дмитрия Андреевича

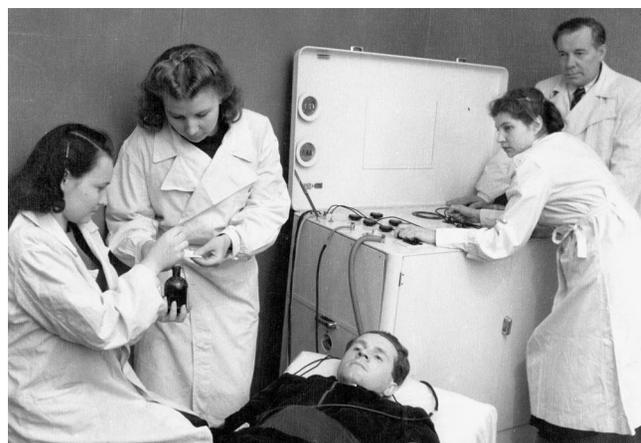


Рис. 2. Д. А. Бирюков с аспирантами В. Климовой, В. Петелиной и Н. Голевой проверяют работу шлейфного электрокардиографа. Ленинград, 17 февраля 1951 года. Испытуемый — младший научный сотрудник «человеческой» лаборатории отдела Николай Михайлович Трофимов.

и по поводу нашей молодежной неосторожности («не то сказали», «не так поступили» и т. д.). Тем не менее, он очень умилялся нашей общественной активностью. Валентину Петелину выбрали комсоргом институтской организации, меня заместителем. Нельзя не упомянуть, какую активность мы, «приехавшие из провинции», проявили в первые месяцы жизни в ИЭМ. Заговорили в комитете комсомола о праздничной встрече нового 1951 года.

Раньше в Институте елку никогда не устраивали. Мне поручили съездить с заявкой на очень большую ель в деревню-колхоз Малиновку, что за Пороховыми. Было уже снежно и морозно, ехать надо было за город по одноколейному трамвайному пути. И я, не предвидя ожидавшие меня трудности, смело поехала разыскивать вначале трамвай к Пороховым, а потом снежную дорогу в Малиновку. Добралась еще засветло. Сидевший за столом мужчина был осведомлен. Заявку оформили и елку доставили за несколько дней до Нового года. Всем пожелавшим

принять участие в оформлении ель и конференц-зала заведующие отделами разрешили по очереди отлучаться с работ. Инициатива понравилась и секретарю партийной организации А. А. Маниной. «Но этого мало, — сказала она, — нужно подать заявку на отпуск курсантов-моряков». Не помню, из какого военно-морского училища. Заявку нашу удовлетворили, и больше 30 молодых моряков командировали к нам на новогодний бал. Кроме этого, инициативная группа решила украсить бал костюмами из костюмерной Мариинского театра, что и было сделано. Другая инициативная группа решилась на самостоятельность. Была приглашена балерина из Мариинки. Вечер удался. Дмитрий Андреевич с интересом следил за всем происходящим. Все остались довольны. Новогодняя елка потом стала традицией, особенно с участием появившихся у нас малышей.

Рабочие трудности в 1951–1952 гг. и последующие годы не только прибавлялись, но и преодолевались. Особенно в связи с формированием нового научного направления. Возникла потребность оснащения лаборатории необходимыми для исследований приборами, щадящими способами фиксации животных в эксперименте, технологии их содержания в соответствии с видовыми особенностями и т.д. Наконец, едва ли не наибольшие затруднения вызвали способы добывания животных разного рода и вида: лягушек, рыб, пресмыкающихся, млекопитающих.

В опытах аспиранта В. В. Фанарджяна требовались рыбы и миноги. За ними ездили в поселок Ропшу, на рыбозавод. Аналогично получали птиц (голубей, кур, уток). Ужей, черепах, варанов присылали из Средней Азии по почте. Эти ящики (или упаковки) удивительно быстро доставляли в лабораторию. За их содержание отвечали сами сотрудники, так как подопытные имели большую склонность «к перемене мест». Работавший с нами В. Багрянский очень успешно справлялся с этими непоседами. Он много работал и получил оригинальные экспериментальные данные об особенностях вегетативной регуляции у этих животных.

Использование соответствующей техники и методов исследований требовало привлечения инженеров-механиков (уже работал в коллективе В. Жилин) и столяров. Позднее, в связи с постановкой новых задач нейрофизиологии разных уровней регуляции, потребовалась квалифицированная помощь инженеров в области электроники, и с начала 1960-х гг. они появились в штате отдела.

Экспериментальная работа не останавливалась, копились новые значимые данные. В ту пору особенно энергично трудились аспиранты. В 1950–1951

годах В. Петелина и я еще набирали материал. Поставленная задача сравнения выработки условных дыхательных рефлексов у домашних и диких животных требовала дополнительных экспериментов, в частности на кроликах и зайцах. К счастью, и в Ленинграде нашлись охотники, которые приносили нам зайцев. В начале октября 1952 года В. Петелина и я на одном заседании Ученого совета защитили диссертации с присвоением степени кандидатов медицинских наук. Защита для нас обеих и для нашего руководителя была только началом нашей общей научной работы. Перспективы были зримы. У меня, в частности, — продолжить изучение вегетативной регуляции ЦНС в эволюционном аспекте.

Еще в начале 1951 года лабораторией стала интересоваться общественность Ленинграда. Приходили журналисты-газетчики для знакомства с молодой «порослью». Слушали и смотрели, как Дмитрий Андреевич обучает аспирантов. Авторитет Дмитрия Андреевича рос, и люди охотно шли к нему работать.

Это совпало с хорошими переменами в жизни Дмитрия Андреевича: назревший разрыв с женой Зинаидой Ивановной разрешился по ее инициативе, а Дмитрий Андреевич женился на Нине Робертовне. Уют в его доме сопутствовал «всегда открытым дверям» для многих посетителей, в том числе и из Воронежа.

Но были и сложные моменты. Неожиданно мы столкнулись с очень неприятным для коллектива и Дмитрия Андреевича эпизодом. Нас в очередной раз посетил журналист из «Комсомольской правды» с задачей собрать материал о работе заведующего новой лабораторией и директора ИЭМ члена-корреспондента АМН СССР, профессора Д. А. Бирюкова. Корреспондент сфотографировал сидящих за столом аспирантов, докладывающих о результатах своих исследований руководителю. Нам это очень польстило. Когда же мы получили газету, то на фотографии не обнаружили Т. П. Шляфер. И в заметке ее имя не было упомянуто. Дмитрий Андреевич выяснил, что это стало следствием «нерусской» фамилии на фоне разыгравшейся тогда волны антисемитизма. Наше возмущение можно было понять — ведь никто из участников данной «операции» не потрудился выяснить, что фамилию она получила от отца, оставшегося сиротой после Первой мировой войны. Совсем маленького Поликарпа Антоновича приютила у себя семья немецкого происхождения, предки которой поселились на русской земле еще во времена Петра I.

И вот парадокс! В жестоком, перед последним сталинским XIX съездом партии в 1952 году она была принята в ее ряды! Приняли и В. Петелину, а меня подвергли дополнительным проверкам и отка-

зали из-за негативных пунктов биографии: мать эстонка, с отцом в разводе, родственники за границей, брат во время войны попал в плен, а также потому, что родному государству я пользы еще никакой не принесла. Мою боль разделил Дмитрий Андреевич, сказав, что в данном случае к моему воспитателю «дворянского происхождения» тоже было проявлено неуважение. Замечу, что Тамара, искренне преданная партии ВКП (б), вслух заключила: «Да, в партию большевиков отбирают самых лучших людей». Вспоминаю, что на том же заседании бюро Ленинградского горкома ВКП (б) из кандидатов в члены партии были исключены Н. П. Бехтерева и микробиолог С. А. Анатолий (он за сокрытие сведений о родственниках за границей).

Независимо от неприятностей, отдел продолжал наращивать свой научный потенциал. Большую роль играла известность Дмитрия Андреевича как воспитателя нового поколения научных сотрудников. Так, кроме воронежцев, Шляфер и Голевой в этот период стали аспирантами приезжие, в основном выпускники 1-го Ленинградского медицинского института им. И. П. Павлова. Это Е. А. Корнева (Оренбург), Э. К. Шамова (Дзержинск), В. В. Фанарджян (Ереван), О. В. Богданов (Краснодар) Ф. П. Ведяев (Саратов), Г. А. Вартанян (Краснодар). Аспиранты заканчивали набор материалов и защищали кандидатские диссертации. Среди них была и эстонка Ёйе Томинг (в замужестве Reintam O., 1923–2011), изучавшая особенности условных рефлексов у морских свинок. Ее работа выделялась изобретательной авторской методикой, которая впоследствии была успешно использована другими диссертантами, в частности, Валентиной Яковлевной Катинас, выполнявшей диссертационное исследование под руководством Дмитрия Андреевича в НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта.

Ёйе Томинг отличалась самостоятельностью, упорством характера и прямой высказываний, что не понравилось членам партбюро Института. Кто-то из них, зная о том, что она была направлена в «целевую» аспирантуру из Тартуского университета, обратился туда в учебную часть, и вскоре ее отозвали. К удивлению Ёйе, места по ее профилю физиолога не нашлось, и в течение нескольких лет она работала врачом по случайным вакансиям. Однако упорное тяготение к науке помогло ей вернуться в Тартуский университет и в 1970-е годы защитить докторскую диссертацию по спортивной физиологии. Она была очень душевным и откровенным человеком, разносторонним и принципиальным. Последнее неизбежно вело к столкновению с начальством Тарту, особенно в годы, когда коммунистическая партия СССР играла доминирующую роль.

Позднее, при назначении пенсии ей было отказано в надбавке, которая полагалась всем эстонцам докторам наук — за выступления в пользу социалистического строя. В молодости увлекалась пением, а на пенсии — поэтическим творчеством. Участвовала в нескольких поэтических сборниках, к сожалению, только на эстонском языке. В апреле 2009 года увидела свет её красочная книга стихов «Жизнь блаженство — жизнь боль» [2]. Ёйе первой из нас в 1943–1944 гг. познакомилась с Дмитрием Андреевичем в Ульяновске, хотя здесь, в Ленинграде, после защиты диссертации пробыла недолго.

До конца 1952 года мы оставались на Кировском проспекте. Но затем, когда отремонтировали «Лондоновское здание» на основной территории ИЭМ, мы переехали туда и разместились свободно. Приспосабливали комнаты для условных рефлексов, оборудовали экспериментальные установки, фотокomнату, помещение для закапчивания белых бумажных лент — писали на вращающихся кимографах с помощью прислоненных к ним писчиков. В основном были «хронические» опыты с условными рефлексами, но затем понадобились и «острые» опыты на наркотизированных или обездвиженных животных. Электрофизиологического оборудования тогда еще не было, если не считать шлейфного кардиографа.

Для грамотного оснащения условий опытов к нам приходил Дмитрий Николаевич Меницкий (1922–2009), который вначале работал инженером в отделе им. И. П. Павлова. Потом он перешел на работу к нам и заботился о модернизации условий опытов. Ему удалось смонтировать первое устройство для регистрации биотоков мозга у животных, для чего потребовалась экранированная от разных помех камера. Первой на этой установке стала работать Т. М. Загорулько. Вдвоем с Д. Н. Меницким они, регистрируя электроэнцефалограмму (ЭЭГ) лягушек, впервые получили еще одно важное подтверждение значения экологической адекватности раздражителей. Оказалось, что у земноводных ЭЭГ-реакцию можно зарегистрировать только при предъявлении зеленых предметов, окрашенные в иные цвета предметы оставались индифферентными раздражителями.

С развитием технического обеспечения лабораторного электрооборудования характер исследований изменился. В 1960-е годы появилась возможность регистрации импульсов в нервных волокнах и нервных клетках. На это были направлены усилия в использовании комбинации погруженных в мозг стимулирующих и отводящих электродов с применением стереотаксической техники. Первыми, кто занялся изучением внутриклеточных потенциалов, стали Г. А. Вартанян и Т. П. Шляфер. Она первой из нас

защитила докторскую диссертацию в середине 1960-х годов. В 1966 году стала доктором наук и я.

За десятилетие с 1950 до 1960 года, благодаря новому инструментальному подходу, экспериментально обогатилось главное направление в изучении эволюционного развития регуляторных функций головного мозга с особым акцентом на функции дыхания и сердечно-сосудистой системы. Пополнился эволюционный ряд подопытных животных, возросло количество методических приемов. Вскоре Дмитрий Андреевич опубликовал монографию [3], где впервые поставил вопрос о создании нового научного направления — экологической физиологии человека, в интересах здоровых и больных людей.

Апологеты традиционной физиологии упрекали его в «биологизации человека», считая, что все вопросы о влиянии среды на организм применительно к человеку должны сводиться к гигиене. Однако позднее, уже после кончины Дмитрия Андреевича, результаты исследований человека, продолжавшихся в этом направлении исследований, убедили научную общественность в многозначном приложении данного понятия. Это убедительно показано в коллективной монографии под редакцией Е. А. Корневой [1].

Шло время, и менялись «времена». Наступила пора «потепления», обусловленная политическими событиями в стране. Это заметно сказалось на общественных настроениях, в особенности в литературе и науке. В советском обществе происходили изменения, способствовавшие успешному развитию науки. Первая половина 1960-х годов была отмечена целым рядом событий, знаменующих подъем лаборатории, повышение методического уровня исследований и профессиональный рост сотрудников. Состоялись значимые для науки публикации, открытие Е. А. Корневой в области центральной регуляции иммунных реакций, подготовка нескольких докторских диссертаций. Усилилась связь с научными лабораториями в нашей стране и за границей. Этому сопутствовали изменения обстановки в стране, сегодня именуемые «хрущевской» оттепелью.

В 1962 году Д. А. Бирюкова избрали действительным членом АМН СССР. Мы, ближайшее его окружение, отозвались традиционным «капустником». Однако вскоре Дмитрий Андреевич перенес тяжелый инфаркт миокарда, который, конечно взбудоражил весь коллектив. В Институте уже заговаривали о преемнике. Но он снова «стал к рулю» благодаря заботам медиков, Нины Робертовны и сотрудников. Конечно, Дмитрий Андреевич заботился, чтобы о наших работах знали, и, главное, чтобы мы не останавливались на достигнутом. Он не просто охотно разрешал

ходить и ездить в другие лаборатории, а напротив, настаивал на знакомстве с их работой. Да и нам рекомендовал не отказывать в консультациях и обучении тому, в чем мы поднаторели сами. Это было и интересно, и поучительно. Так, Г. А. Вартачану он позволил съездить в Киев к академику П. Г. Костюку для освоения техники изучения нейрофизиологических процессов на уровне клетки. Кстати, в АМН СССР тоже стали поощрять такие поездки, даже к зарубежным ученым.



Рис. 3. Сотрудники поздравляют Д. А. Бирюков с избранием в действительные члены АМН СССР. Слева направо: Т. Шляфер, Т. Блинкова, М. Яковлева, В. Климова, Л. Пирожкова, Е. Шевелько. Ленинград, Московский вокзал, 8 февраля 1962 года.

Первой из нас командировали Т. П. Шляфер в г. Печ (Венгрия) к известному нейрофизиологу академику Кальману Лишаку (1908–1982). Потом в 1961 году поехала и я для посещения лабораторий и кафедр физиологии в Будапеште, Пече, Дебрецене. Одновременно со мной на микробиологические кафедры тех же университетов был командирован С. А. Анатолий. Наше прибытие в Будапешт совпало с полетом Ю. А. Гагарина в космос. На другой день я убедилась, что событие это вошло в историю всех народов. Уже утром, у гостиницы, меня захватил поток стихийной демонстрации жителей и многочисленных приезжих из разных стран, в основном учащихся университета, куда я была командирована. На кафедру нормальной физиологии медицинского факультета я попала лишь несколько часов спустя. Все работавшие на кафедре собрались вокруг телевизора, показывавшего самого Юрия Гагарина и многочисленные демонстрации в Москве. Меня поздравляли с этими событиями по принадлежности к Советскому Союзу.

В. В. Петелина вскоре побывала в ГДР для знакомства с работой физиологов Института кортико-висцеральной патологии и терапии в медицинском центре в Берлин-Бухе. Посетивший наш

отдел с ответным визитом доктор Стефан Михайлович Ничков, заведовавший лабораторией физиологии в упомянутом институте, познакомившись с моими работами, пригласил меня в Берлин-Бух для совместных исследований с целью изучения патогенеза гипертонической болезни на экспериментальных моделях разных форм артериальной гипертензии. В АМН СССР одобрили это предложение и заключили договор о сотрудничестве с АН ГДР в Берлине. Наши со С. Ничковым взаимные поездки по обмену продолжались с 1964 по 1969 год вплоть до моего перехода в Ленинградский НИИ экспертизы трудоспособности и организации труда инвалидов.

В 1964 году Дмитрий Андреевич и сам побывал в Берлин-Бухе. В ноябре его и меня (как уже рекомендованную для совместной работы) командировали на Международный симпозиум по кортико-висцеральной физиологии и патологии в Берлине (ГДР). В состав делегации от СССР вошли такие ученые, как академик, профессор Владимир Николаевич Черниговский (1907–1981), профессор Эзрас Асратович Асратян, профессор Александр Александрович Волохов (1903–?). Тема моего доклада была связана с изучением процессов эволюции тонической функции блуждающих нервов. Поездка сочеталась с посещением Дрездена (он был еще в руинах) и галереи, уже перемещенной после временной экспозиции в Москве. В конце симпозиума участники были приглашены на прием у Президента АН в Берлине. Все были приятно удивлены, когда Дмитрий Андреевич под аплодисменты и улыбки присутствующих спел несколько песен донских казаков.

Д. А. Бирюков как руководитель и вообще как человек был очень мягок в общении с людьми, но очень тверд в своих (адекватных) решениях. Его, как директора Института, нередко упрекали, что, пользуясь «своей властью», он расширил собственный научный коллектив с 12–15 человек до 40 с лишним. Однако совершенно очевидно, что с годами увеличивалась не только численность коллектива, но и темпы его профессионального роста. Параллельно, в ногу со временем, расширялся методический арсенал. Стиль работы Дмитрия Андреевича как руководителя основывался не на подавлении каких-либо перемен, а наоборот, на всяческом поощрении инициативы. Доверяя автору, он никогда не препятствовал самостоятельному выбору темы и цели исследования, не подавлял программу исследования или ее методическую составляющую, если они соответствовали современному уровню развития науки.

Соответствие технического обеспечения задуманной идеи исследования стало едва ли не главным условием

ее воплощения. Ведущим компонентом научного поиска стала электрофизиология как метод, обеспечивавший максимальную объективизацию полученных результатов и выбор источника информации. Романтика описательной формы научных исследований уступала место прагматике точных расчетов, оценке количественных характеристик изучаемого явления, внедрению новых терминов, попыткам проникновения в микромир физиологических механизмов.



**Рис. 4.** Традиционный обмен мнениями в коридоре отдела сравнительной физиологии и патологии. Слева направо: Н. Н. Василевский, Д. А. Бирюков, Т. Блинова, В. Петелина, В. Климова-Черкасова, О. В. Богданов. Ленинград, 5 ноября 1963 года.

Это подвело к необходимости применения не только математической обработки и оценке результатов, но и к автоматизации всего эксперимента на основе использования электронно-вычислительных машин первого поколения. Во второй половине 1960-х годов мы уже были готовы к использованию персональных ЭВМ (компьютеров). Надо признать, что в реализации этих подходов большую роль сыграл старший научный сотрудник, доктор медицинских наук Николай Николаевич Василевский, к тому времени побывавший в ряде крупных лабораторий на Западе. Добиваясь оснащения техникой для регистрации электрофизиологических потенциалов с дальнейшей математической обработкой, он обеспечил нам возможность не только получить новые факты, но и представить их неожиданные интерпретации.

Конечно, подобная работа становилась невозможной без участия инженеров. Наш коллектив при горячей поддержке Дмитрия Андреевича стал пополняться сотрудниками с высшим техническим образованием. Вокруг Дмитрия Андреевича сложилась «его вторая семья». Ссор между сотрудниками он не терпел. Коллектив отдела хорошо знал его некоторые особенности, и расположение было взаимным. Работа отдела удовлетворяла вышестоящие руково-

дящие органы, и, как казалось самого Дмитрия Андреевича.

Однако легко ли ему жилось? Он всегда держал себя в руках, даже если это было непросто. Его выручал «золотой запас» склонности к шуткам и контактам с людьми, склонным к юмору. Он всегда ненавязчиво умел поделиться новостями и вызвать добрую ответную реакцию. Его богатый внутренний мир ощущался во многих проявлениях. Как и в Воронеже, когда мы еще совсем девчонками окружали его, он мог вдруг остановиться на улице и начать декламировать стихи Тютчева или Фета. Зачастую, прогуливаясь по длинному коридору отдела, он в случае «элегического» настроения мог заговорить о чем-то, не относящимся к работе. Он быстро «обрастал» толпой выходящих к нему сотрудников. Поддразнивая нас, вызывал на веселый спор или на отповедь. И если был весел, контактен в ходе шуток, значит, был в состоянии раскованности, непринужденности. Иногда был грустен, тогда напевал отрывки из оперы «Хованщина» М. Мусоргского: «Познаешь ты, княже, опалу и лишенья...». Вздыхал и утвердительно добавлял: «Судьба так решила», — это из сцены гаданья Марфы.

В застолье запевал песню донских казаков. Предметом таких сборов были дни рождения или успешные защиты диссертаций. Он не отказывался, как и когда-то в Воронеже, от приглашений встретиться в домашней обстановке, например, по поводу рождения ребенка. В этом случае обязательно приносил игрушку. Гостеприимство Дмитрия Андреевича и Нины Робертовны распространялось на многих. В их доме нередко можно было видеть Владимира Андреевича Алмазова (1931–2001), который его лечил по поводу инфаркта миокарда в клинике 1-го Ленинградского медицинского института им. акад. И. П. Павлова. Из Москвы часто навещался уважаемый и любимый ученик и друг Петр Кузьмич Исаков (1920?–2008). Как выяснилось относительно недавно, лауреат Государственной премии, доктор медицинских наук П. К. Исаков долгие годы работал в отряде подготовки космонавтов как врач-физиолог.

О плодотворной деятельности и многих человеческих достоинствах Дмитрия Андреевича достаточно полно и ярко написала Е. А. Корнева в упомянутой выше книге. Я хотела бы еще вспомнить о некоторых уже забытых фактах и выразить свои суждения о «шефе» (как мы его называли заочно) и Учителе, который своим поведением ненарочито воспитывал в нас отношение к науке, к жизни, к Человеку. Особенно поражала его незлобивость. Ведь были со стороны некоторых лиц высказывания и поступки, которые всякий на его месте «отыграл» бы в стиле

обидчика. У него все было по-другому, по-своему. Например, разве можно было стерпеть насмешку профессора Эразма Григорьевича Вацура (1907–1967), который, смеясь, сказал с трибуны большого совещания: «Мы только что заслушали „охотничьи рассказы“ Бирюкова». Это касалось приемов, доказывающих значение экологической адекватности сигналов. А ведь Э. Г. Вацура было неведомо, что подобные сигналы действительно имеют место в природе как способы общения животных. Дмитрий Андреевич не только промолчал, но и через некоторое время, когда насмешник оказался без работы, принял его к нам в отдел. Мы почти все у него были так или иначе любимыми, он никого особо не выделял. Но если кто-то сам заявлял о своей незаменимости, он этого не прощал. Одна весьма успешная сотрудница письменно заявила, что уйдет с работы, если Дмитрий Андреевич не выполнит ее требование. Он сразу же подписал ее заявление об уходе и не отменил своего решения, сколько она ни просила о прощении. Дмитрий Андреевич никогда не уговаривал, если кто-то отказывался выполнить его просьбу или задание.

О его порядочности свидетельствует много фактов, особенно в части человеческих отношений и поступков. Он тяжело перенес последствия разрушительной, унижавшей достоинство политики, касающейся генетики. Близкий к Д. Н. Насонову профессор Владимир Яковлевич Александров (1906–1998) много лет спустя, вспоминая происходившее [4] и рассказывая об успехах возродившегося Института цитологии, подчеркнул непричастность Д. А. Бирюкова к ликвидации их отдела в ИЭМ. Хотя поползновения обвинить его были.

Тем не менее, как ни горестно вспоминать, Дмитрий Андреевич по настоянию свыше (скорее всего партийных органов) вынужден был иногда выступать письменно и устно, с приведением политических аргументов в духе времени. Он очень страдал от такой необходимости, страдало его здоровье. Особенно это касалось его публичной критики академика Л. А. Орбели. К счастью, уже в январе 1956 года на базе академической группы, а затем лаборатории Л. А. Орбели был создан Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова АН СССР, где Леон Абгарович стал директором. Туда ушли несколько наших сотрудников во главе с профессором А. И. Карамяном.

Были и другие неловкости Дмитрия Андреевича из-за инициатив со стороны властей. Но уже во второй половине 1960-х годов он открыто начал противиться несвоевременным (в рабочее время) вызовам в горком партии, объясняя свои отказы «явиться»

тем, что он не только коммунист, но еще и сотрудник большого учреждения, где обязан работать.

Дмитрий Андреевич как человек и ученый был достаточно разносторонним и справедливым. Особенно хочется отметить отсутствие деспотизма и неназойливость в обучении младших чему-либо, особую способность подавать идеи намеками, уважительное отношение к авторству молодых первооткрывателей. Очень бережно Дмитрий Андреевич относился к нашей индивидуальности и не переносил «замахов» на маститость. Все помнят его умение похвалить не открытым текстом, а словами: «а ты не дура» или «а это можно включить в текст моего выступления». Умел тепло и мягко поддержать словом, действием, вопреки общественному суду. Много раз демонстрировал он бесстрашие, приглашая на работу отринутых по политическим мотивам ученых. Кажется, что в основном мне удалось приоткрыть совокупность его положительных качеств, проявлявшихся в разные времена в науке, на руководящей работе и в жизни.

Было бы упущением не рассказать о том, как он выступал перед аудиторией. Со студенческих лет мы часто присутствовали на многих его выступлениях перед разными аудиториями, черпая из них не только умение и опыт по их сути, но и манеру держаться на трибуне и главное — говорить, никогда не читать по бумажке. Его выступления перед аудиторией и сам процесс председательского ведения заседания всегда подкупали. Хотелось этому научиться. Например, как председатель Ученого совета ВГМИ и ИЭМ он всегда охранял докладчика от реплик из зала, обязывал дискутирующих говорить непродолжительно и конкретно. Заседания ученых советов всегда проходили четко, без затяжек. Как оппонент при защите диссертации Дмитрий Андреевич свое мнение тоже излагал кратко и ясно, не задавая ядовитых вопросов, но и не расхваливая на 100%. Мне очень нравилась свобода его речи, даже в труднопроизносимых и с трудом воспринимаемых словах или фразах, его четкая, спокойная, без нажима речь.

Как правило, он говорил свободно, легко оперируя иллюстративным материалом. Лишь один раз я была свидетелем его не готовности к «вольному» выступлению. На одной из конференций 1951 года в Москве, отголоске «объединенной сессии», Д. А. Бирюков вступил в полемику с академиком АМН СССР А. Г. Ивановым-Смоленским (1895–1982) и не смог отстоять свою точку зрения на роль учения И. П. Павлова в медицинских науках. Было очень больно видеть проигрыш Учителя в красноречии и убедительности доводов. Обычно этого не было, Дмитрий Андреевич говорил свободно, просто

и убедительно. Исключение составляли доклады, содержавшие элементы официального, заказного. Тогда он непременно читал свое выступление.



Рис. 5. Напряженная работа! Д. А. Бирюков изучает очередную кандидатскую диссертацию за письменным столом принца А. П. Ольденбургского из карельской березы (ныне в собрании Екатерининского дворца в г. Пушкин). Ленинград, декабрь 1963 года.

После перенесенного в 1962 году инфаркта миокарда Дмитрию Андреевичу требовалось регулярное медицинское обследование и лечение, но он всячески это игнорировал. Уже было заметно, что ежедневные походы на работу стали медленнее и тяжелее. На уговоры Нины Робертовны сократить нагрузки он не поддавался.

К концу 1968 года признаки нездоровья усилились. Нам он никогда не жаловался. 6 и 7 января 1969 года его состояние ухудшилось, но от вызова врача Дмитрий Андреевич отказался, а 8 января его не стало. Так закончился жизненный путь этого большого Ученого.

Внезапная кончина Дмитрия Андреевича в январе 1969 года была большой потерей для науки, и отдела в частности, личным горем почти для каждого сотрудника. Вместо Дмитрия Андреевича руководителем отдела был назначен доктор медицинских наук Н. Н. Василевский.

Весной 1970 года отдел расформировали, официально — ввиду многочисленности научных сотрудников, в том числе докторов наук. Имею смелость написать, что независимо от этой основной формулировки для увольнения («несоответствие») и драматичности последовавших событий с отчислением сотрудников при участии «местного комитета», Д. А. Бирюков оставил Институту в наследство солидное число научных достижений, полученных при помощи большого коллектива, в том числе с участием «не соответствующих» должности сотрудников, достаточно зрелых как по стажу работы, так

и по научным достижениям. Не ошибусь, если добавлю, что событие это стало потерей для отдела в будущем его существовании. Некоторые уволенные столкнулись с большими трудностями при трудоустройстве.

Действительно, к моменту этих событий отдел стал относительно многочисленным, но бездельников не было. Прибавилось несколько сотрудников с инженерно-техническим образованием. К их числу принадлежит Николай Борисович Суворов (р. 1940), который за многие годы работы стал вначале кандидатом биологических наук, а затем защитил и докторскую диссертацию. В настоящее время он возглавляет одну из лабораторий отдела экологической физиологии. Еще при жизни Дмитрия Андреевича заведующим отделом физиологии им. И. П. Павлова стал Г. А. Вартамян, после защиты докторской диссертации туда же перешел Н. М. Яковлев. Уехал заведовать кафедрой нормальной физиологии Харьковского медицинского института Ф. П. Ведяев. Перешел в отдел общей патологии Габбаз Закарриевич Абдуллин. После кончины Дмитрия Андреевича с группой сотрудников (Э. К. Шхинек, И. П. Цветкова, аспирант В. М. Клименко) в тот же отдел перешла Е. А. Корнева. Зоя Араратовна Алексанян оказалась в отделе нейрофизиологии, а при создании (1990) Института мозга РАН (ныне — им. Н. П. Бехтеревой) стала его научным секретарем.

В разные годы коллектив отдела состоял из 15–30 научных сотрудников и старших лаборантов. В конце жизни Дмитрия Андреевича среди них было 7 докторов наук: О. В. Богданов, Г. А. Вартамян, Н. Н. Василевский, Ф. П. Ведяев, В. И. Климова-Черкасова, Е. А. Корнева, Т. П. Шляфер, были готовы к защите В. В. Петелина и М. И. Яковлева. В 1965 году защитился Г. С. Катинас (1924–2014), участник Великой Отечественной войны, награжденный медалью «За оборону Ленинграда». В 1967–1968 гг. кандидатские диссертации защитили В. И. Бут, А. М. Зингерман, Н. Ф. Майорова. Последний аспирант Дмитрия Андреевича, В. Клименко, кандидатскую диссертацию защитил в 1971 году.

Важно сказать, что, несмотря на неоднородность по характерам и профессиональным качествам, у нас сложился единый, как семья, коллектив, в течение многих лет, работавший с Дмитрием Андреевичем. Кроме упомянутых выше лиц, хочу вспомнить младших научных сотрудников Т. П. Блинкову, И. А. Лер, А. А. Антонову, лаборанта Г. Симонович, М. В. Медведеву (Коваленкову), В. В. Урьяш (Куликову), инженера-механика В. Жилина,

сестру-хозяйку Е. М. Семенову, служительниц вивария Ираиду и Феодосию Герасимовну. Лариса Карловна Вольнская — незаменимый референт Дмитрия Андреевича, по его совету перешла в учебную часть ИЭМ как преподаватель английского языка, а потом долгие годы руководила подготовкой аспирантов Института. Кандидат медицинских наук (1954) Валентина Яковлевна Катинас (р. 1923) еще в 1963 году поступила на работу в научно-организационный отдел, которым тогда заведовал Г. А. Вартамян. Год спустя она перешла к нам в отдел, где сочетала научные исследования с должностью ученого секретаря ИЭМ, но в 1979 году ей пришлось перейти на работу в Ленинградский Горздравотдел. Под руководством доктора медицинских наук Т. П. Шляфер в 1973 году защитила кандидатскую диссертацию Жанна Георгиевна Александрова. Эта диссертация — одна из последних двух работ, выполненных под руководством Т. П. Шляфер, посвященных изучению роли экологически адекватных безусловных и условных сигналов в образовании временных связей. Но в отличие от работ 1950-х годов, она проведена была на соответствующем времени техническом уровне с регистрацией нейрональных реакций и непосредственной стимуляцией подкорковых структур мозга. Впоследствии Ж. Г. Александрова заняла должность старшего научного сотрудника отдела, а с 1979 по 1992 год одновременно являлась научным секретарем Совета по защите кандидатских диссертаций.

Много сил вложил в наши исследования инженер и талантливый научный сотрудник Д. Н. Меницкий. Занимая разные должности и имея техническое образование, он не только оказывал нам неоценимую техническую помощь, но и вдумывался в суть исследований. Техническая и биологическая образованность в сочетании с широтой мышления позволили ему последовательно защитить кандидатскую, а затем и докторскую диссертацию по биологическим наукам. Все эти люди в первую очередь были многолетними сотрудниками Дмитрия Андреевича Бирюкова. Пусть простят меня те, кого я не упомянула.

Д. А. Бирюков вспоминается невольно, и часто хочется о нем рассказать. Но писать о таком большом, непросто человеке — очень непросто. Когда вспоминаю о нем, всегда вижу его добрую, тихую улыбку. Улыбка была нам, работавшим с ним, поддержкой в трудные минуты и наградой, знаком отличия, если удавалось сделать что-то хорошее. Вся его фигура излучала какой-то притягательный свет. Сейчас с уверенностью можно сказать, что не просто интерес к физиологической науке, а именно обаяние личности этого человека многих из нас привело

в науку. Его манера говорить просто, без эмоциональных интонаций, как бы обдумывая на ходу; даже ставить сложные задачи, очаровывала и подкупала доверием. В особенности это манило молодежь. Мы забывали, что еще ничего не знали, но с гордостью и рвением брались за порученное. Он никогда не «водил за ручку». Это было удивительное умение без нажима заставить нас работать самостоятельно, искать и учиться с радостью, поверить, что будут результаты. Он никогда не подавлял индивидуальности — каждый работал по-своему. В лаборатории, даже в выходные дни и по вечерам, кто-нибудь работал. Дмитрий Андреевич всегда чувствовался где-то рядом. Очень любил ходить «на опыты». Его советы и замечания звучали товарищески. Очень умел заинтересовать и направить творческие усилия молодых. Для него не имело значения отсутствие опыта и знаний, если мы достигали чего-то нового. Как любовно он относился к первым слабым шагам в науке, как бережно и уважительно подправлял их и не пренебрегал плодами нашего творчества для своих обобщений!

Увлекая нас в теорию эволюционной и экологической физиологии, постоянно напоминал о нуждах медицины, о человеке, о его здоровье. И хотя сейчас некоторые ведущие медики и физиологи, принимая во внимание суть экологии человека, пожинают всходы, забыв сослаться на Дмитрия Андреевича Бирюкова, мы — свидетели XX века, знаем, как нелегко ему было «распахивать целину».

Сейчас я рада надеяться, что, несмотря на многолетний перерыв в контактах с ИЭМ и мой преклонный возраст, мне удалось вспомнить немало лиц и событий. В первую очередь коснуться в доступной мне форме сопутствующей истории России, написать о многих людях, в кругу которых довелось общаться с моим Учителем. Для многих из них, как и для меня, он в первую очередь был Человек-Учитель. Особенно буду рада, если ныне живущие иэмовцы сочтут интересным это прочтение. Благодаря Дмитрию Андреевичу, его человеческим качествам и таланту ученого Институт экспериментальной медицины стал для меня *alma mater*. В созданном им коллективе было немало сотрудников, проработавших рядом с ним более 10–15 лет. В разные годы мы пережили немало перемен в жизни нашей страны, развитии общества, у нас и во всем мире. Мы всегда жили одной семьей и были преданы ему. Мне очень жаль, что никто из нас не догадался вести летопись лаборатории — многое забывается, а знать об этом важно. В связи с этим обращаюсь к словам В. И. Вернадского (1863–1945): «Мне кажется, страшно важно, чтобы из семей никогда не исчезала история семьи. В семьях, где долго длится подобная

история, всегда есть большая возможность выработки сильных характеров в достижении традиционных целей. Ближе связь с Землей, с историей Родины. Полтава, 2 июля 1891» [5].

Дмитрий Андреевич, безусловно, не был религиозным человеком. Однако неконкретность значения слова «душа» и частое его употребление в жизни каждого человека, даже не верующего в Бога, побудила его к анализу данного понятия с объективных позиций физиологии [6]. Память об Учителе ассоциируется у меня с мыслями В. И. Вернадского о «важности истории семьи», «вечной памяти», о «бессмертии души и личности», о том, что человек жив, пока он остается в памяти живущих и властвует над нашим воображением.

Рассуждая о разных проявлениях высшей нервной деятельности человека на основе учения И. П. Павлова, он признавал наличие «души» у человека и относил сущность осознания этого к психическим процессам. Спустя несколько лет он часто спрашивал нас: «Есть ли душа у человека?». И сам отвечал: «Конечно, есть». Однако, по словам П. К. Анохина, «„обман“ психических явлений содержит в себе много таинственных сторон, которые для широких масс столь же привлекательны, сколь и непонятны» [7]. Отсюда склонность многих к мистике.

Можно утверждать, что биологически мы не бессмертны. Но человек взаимодействует с другими близкими ему людьми в семье, в ближайшем окружении общества. Значит, у них откладывается в памяти его образ, слагающийся из разных атрибутов такого взаимодействия. Тем самым вольно или невольно этот след передается от одного к другому, от старшего к младшему. След этот может (и должен!) передаваться из поколения в поколение. Помнят о Дмитрии Андреевиче многие из общавшихся с ним людей, часто вспоминают о нем в семье, в кругу друзей. Его знали наши родители и дети — и по нашим разговорам, и по встречам с ним. Теперь я рассказываю о нем своему внуку, моим сотрудникам в другом институте он тоже известен. Память о человеке — Д. А. Бирюкове — живет уже в третьем поколении.

Светлый след в душе оставил этот большой человек. Память о нем жива. О значении личности Дмитрия Андреевича в истории ИЭМ, где он работал 19 лет, заботятся многие сотрудники, отмечая «круглые» даты его жизни, а теперь будут знать люди, даже с ним не знакомые. Так может передаваться бессмертная память — из поколения в поколение. Мои воспоминания (некоторые из них — 70-летней давности) основаны на личном общении с Дмитрием Андреевичем в течение 25 лет моего взросления.

Во многих высказываниях наверняка проскальзывает субъективность впечатлений. Но они практически всегда были сходны с отношением к нему многих работавших рядом людей. В моем изложении не скрыто стремление возвеличить Учителя, хотя многое человеческое не было ему чуждо, и в то же время очень многое хотелось у него заимствовать.

Кажется, многим это удалось. Дмитрий Андреевич оставил след в отечественной и мировой науке не только своими оригинальными подходами в решении первостепенных задач развития фундаментальной физио-

логии. Выдвинув проблему экологической физиологии, он расширил ее значение для оберегания здоровья человека и защиты окружающей среды. И столь же важна его деятельность как воспитателя растущего поколения физиологов разных профилей в следующих поколениях. Плоды этого он уже видел и в моем поколении, а мы успели пожать их в пределах отпущенного нам времени. Имею смелость выразить это от лица многих воспитанников нашего Учителя. Благодарю судьбу за встречу с этим Человеком.

### Литература

1. Дмитрий Андреевич Бирюков в Институте экспериментальной медицины. К столетию со дня рождения» / Отв. ред. академик РАМН Е. А. Корнева. — СПб.: Институт экспериментальной медицины РАМН. 2003. 87 с.
2. Reintam Õie Elu võlu eluvalu. — Tartu: Küljendus: Aivar Tapasi Trükk: Bookmill, 2009. — 127 s.
3. Бирюков Д. А. Экологическая физиология нервной деятельности (Некоторые вопросы биологических основ теоретической медицины). — Л.: Медгиз, Лен. отд-ние, 1960. — 114 с.
4. Александров В. Я. Трудные годы советской биологии: записки современника. — СПб.: Наука, 1993. — 260 с.
5. Вернадский В. И. Основую жизни — искания истины. Дневниковые записи. Дневник. Наброски фактов, мысли. Записи 1890–1894 гг. // Новый мир. — 1988. — № 3. — С. 202–233.
6. Бирюков Д. А. Существует ли душа? (О природе психической деятельности человека). — М.: Знание, 1955. — 32 с.
7. Бирюков Д. А. Миф о душе. Современная наука о психической деятельности человека / общ. ред. и предисловие действительного члена АН СССР П. К. Анохина. — 2-е изд., испр. и доп. — М.: Советская Россия, 1958. — С. 6.

Поступила в редакцию: 21.11.2014 г.  
Контакт: Виктория Ивановна Климова-Черкасова.

#### Сведения об авторе:

Виктория Ивановна Климова-Черкасова — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РСФСР, консультант.

Наши подписные индексы:  
Агентство «Роспечать» — **57999**  
Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 614(2)

**ЕЛЕНЕ КОРНЕВОЙ – ПИОНЕРУ НЕЙРОИММУНОЛОГИИ, В ДЕНЬ ЕЕ 85-ЛЕТИЯ ПОСВЯЩАЕТСЯ***Иштван Берци*

Отдел иммунологии, Университет Манитобы, Канада, R3E 0T5

Кафедра физиологии и фармакологии, Центр фундаментальных наук, Автономный университет Агуаскальентес, Агуаскальентес, Мексика

**A TRIBUTE TO ELENA KORNEVA, A PIONEER OF NEUROIMMUNE BIOLOGY, ON HER 85<sup>TH</sup> BIRTHDAY***Istvan Bercz*

Department of Immunology, University of Manitoba, Canada, R3E 0T5

Departamento de Fisiología y Farmacología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México

© Иштван Берци, 2014 г.

В обзоре представлена научная карьера Елены Корневой, которая посвятила свою жизнь исследованиям проблем иммунофизиологии. В базе PubMed находятся 102 ее работы за более чем 52 года ее деятельности, но можно с уверенностью сказать, что у нее гораздо больше научных публикаций (статей, монографий, глав из книг).

Настоящий обзор охватывает в общей сложности 70 статей. Из этих 70 статей 55 зарегистрированы в базе PubMed и были опубликованы между 1962 и 2009 г. Кроме того, мы выбрали еще 14 журнальных статей и одну книгу, которые оказались вне поля зрения PubMed.

Научные интересы Е. Корневой разнообразны, но все имеют отношение к иммунофизиологии. В статье 1963 года, с обсуждения которой начинается обзор, были приведены доказательства, что гипоталамус участвует в регуляции функций иммунной системы [1]. Это положение о взаимодействии нейроэндокринной и иммунной систем, красной нитью проходит во всех ее работах. Исследования Е. Корневой распространяются практически на все направления, относящиеся к иммунофизиологии, в частности такие, как нейроиммунные взаимодействия [1, 5–12]; глюкокортикоидные гормоны [13–15]; цитокины [13–26]; дефенсины [27, 28, 56]; сигнальная трансдукция [30–32]; стресс [33–39]; холинергическая иммунорегуляция [40, 41]; опиоидные пептиды [42]; тимус [43]; шишковидная железа [44]; NK-клетки [45]; анестезия [46]; неспецифическая резистентность [47]; аутоиммунные заболевания [48, 49]; синдром хронической усталости (CFS) [50]; орексин и иммунитет [51–54]; история нейроиммунологии [56]; иммунный ответ в ЦНС [58]; сигнальная трансдукция ИЛ-1 и ИЛ-2 [59, 60], экспрессия генов c-Fos и ИЛ-2 в мозге [61]; сигнальные механизмы стресса [62]; орексин в ЦНС и в органах иммунной системы [63, 64].

Главное, что объединяет все ее исследования — эти работы представляют собой открытия в области иммунофизиологии, раскрывают новые стороны исследуемого предмета. Это делает Елену Корневу по-настоящему выдающимся ученым, ее заслуги оценены различными научными организациями. Она получила многочисленные медали и награды и заслуженно заняла лидирующую позицию в науке.

The scientific carrier of Elena Korneva is presented, who dedicated her life for research on Immuno-Physiology, as she likes to call her field. PubMed reports 102 papers over 52 years. We can safely assume that her total production, including those works, which are not reported by PubMed might be over 200–250 papers, books and book chapters.

We discuss a total of 70 papers, as for many papers only the titles were available to us. Of this 70 papers 55 were reported by PubMed between 1962 and 2009. In addition we have collected 14 papers and one book which were not reported by PubMed. These are book chapters and journal articles.

Her research subjects vary a great deal, but everything has to do with Immuno-Physiology. The first paper we discuss establishes that the hypothalamus regulates immune function [1]. This knowledge that the Neuroendocrine and Immunes Systems interact never was neglected in her papers. Here we list the various fields of her investigations and put the reference numbers in brackets to

help the reader. Neuroimmune interaction [References No.: 1, 5–12]; Glucocorticoids [13–15]; Cytokines [13–25]; Defensins [26, 27, 55]; Signal Transduction [29–31]; Stress [31–37]; Cholinergic immunoregulation [38, 39]; Opioid peptides [40]; Thymus [41]; Pineal gland [42]; Natural killer (NK) cells [43]; Anesthesia [44]; Nonspecific resistance [45]; Autoimmunity [46, 47]; Chronic fatigue syndrome (CFS) [48]. Orexin and immunity [49–52]; History of Neuroimmune Biology [54]; Concluding remarks to NIB 6 [55]; Immune response in the CNS [56]. Signal Transduction by IL-1 and IL-2 [57, 58]. c-Fos gene and Il-2 expression in the brain [59]; Signaling mechanisms in stress [60]. Orexin in the CNS and in immune organs [61, 62]. Neuroimmune pathology of stress [63].

As we may see Korneva covered just about any subjects belonging to Immuno-Physiology. She is a leader, not a follower, so all of the papers present new discoveries, new aspects of various areas of the subject matter she investigated. Considering this fact and also the work that could not be reported here makes her a truly outstanding scientist, which has been appreciated by various institutions. She received numerous medals and awards and fulfilled leading positions for a lifetime.

**INTRUCTION.** Eighty five years have passed and she is still working. I remember meeting her in Italy when Nicola Fabris organized an International meeting on Neuroimmune Biology. On that meeting Korneva came to me to say hello, as she knew my name from the literature, and this is how we met. This was in the late 1970-ies.

In those days there were few people in the field, like Hans Selye, who developed the stress concept, Filipp, G, and Andor Szentivanyi, who discovered that the hypothalamus regulates immune function, Miklos Jancso discovered neurogenic inflammation, Robert Ader discovered Pavlovian conditioning of immune reactions and created the term Psychoneuroimmunology, Hugo Besedovsky developed the concept of cytokines and later worked mostly on the HPA axis in Immunity, the role of pituitary gland and immune function was discovered in my laboratory.

Elena A. Korneva and L. M. Khai described that hypothalamic lesions regulated antibody formation in laboratory animals [1]. With this work they joined the team of old timers who worked on Neuroimmune Interaction.

We could ask the question why Russia and Hungary is the birth place of Neuroimmune Biology (NIB)? Well in Russia Pavlov's fame never faded. I saw the laboratory of Pavlov in St. Petersburg in 2009, it was there exactly like it was 100 years ago (Fig. 1). It was preserved for the educations of future generations. Pavlov put his dogs in an insulated chamber so no other stimulus could get to them only the ones, he delivered. This indicates how much he appreciated the power of the central nervous system, which has to do with everything. With this methodology he discovered conditioned neural reflexes, nowadays it is called «pavlovian conditioning». This was a good environment for Neuroimmune Biology to develop in Russia. In fact Pavlov's students did work on the idea of NIB, but this work never got to be popular worldwide [56]. Hans Selye was Austro-Hungarian, as his mother was Austrian. His work on stress has been and still is of high esteem worldwide. I learnt from Selye that the HPA axis mediates stress when I worked with him. When I got to be a staff

member at the University of Manitoba, we asked the question what else the pituitary gland is doing to the Immune System? This is how pituitary immunoregulation was discovered. So Pavlov, his students and Korneva, were Russian and worked on the central nervous system. Selye, Filipp, Szentivanyi, Jancso and us (Berczi I. and Nagy, Eva) were Hungarians. People like Fabris were early to join the field which became a new discipline, and now we call it Neuroimmune Biology.



**Figure 1.** In Pavlov's laboratory. From left to right: Istvan Berczi, wife, Maria Eugenia Quintanar Stephano, Dr. V. M. Klimenko the Head of Department of Physiology (Pavlov's Department) of the Institute of Experimental Medicine.

So we got acquainted on that meeting and kept our friendship alive all the years till now.

She invited me to meetings in St. Petersburg and I asked her to edit a book in my series of Neuroimmune Biology. She did so [55]. When I had trouble getting authors for my book on Stress and Immunity, she helped me out with 4 manuscripts [62–66]. And so we kept our friendship, helping each other for a long time until now. In addition she contributed regularly to Neuroimmune Biology, and to Advances in Neuroimmune Biology which was much appreciated by me [please see the references].

Fifty years have elapsed since she wrote that groundbreaking paper and she is still working to this date. It beca-

me so natural for me that she is there if I need a good friend for some project she is ready to help. Well now it is time to turn our attention back and see what has been achieved by Dr. E. A. Korneva as she is cited in the literature. She provided me a list of papers for 10 years. Nobody asks for more than 5 years of papers these days, the rest is considered obsolete. This is a big mistake with the current generation. Most young scientists are not aware of the ever lasting values of key achievements in science, such as Korneva's work and achievements...

So, to get things right I had to ask the question, what about 50 years of achievements? What about her life time contribution? I consulted PubMed, and I found 102 papers listed from 1962 till 2011. Now in my case the papers listed in Pub Med amounts to around 40% of my publications, so in her case in maybe over 250 or so the total out put of papers. This is remarkable indeed... In any case her life time achievement is very significant. Her field is really Physiology and treats her subject matter as Immuno-Physiology [3].

#### **A CAREER SPENT ON IMMUNO-PHYSIOLOGY.**

**Korneva's major papers cited by PubMed: Neuroimmune Interaction.** Wistar rats (intact, sham operated and cortex or hypothalamic lesions). In the groups of sham-operated and cortex-lesioned rats spleen weights increased 7 days after operation. This was due to increase of the red pulp weight. The white pulp compartment's ratio was not affected. Lesioning of the posterior hypothalamic area prevented these effects of the operation. Coagulation of the lateral hypothalamic area causes a significant decrease of the weight of spleen primary follicles which contain IgM+IgD+-bearing B-lymphocytes exerting characteristics of circulating pool of B-lymphocytes [5].

Changes in the levels of dopamine, norepinephrine, serotonin and their metabolites in the hypothalamic structures closely related to neurohumoral regulation of immunogenesis. The findings suggest that the monoaminergic systems of the brain are widely involved in the body's response to antigen, which may lead to the conclusion that there are numerous modes of entering information from the immune to the nervous system [6].

Inhibition or stimulation of IL-2 gene expression in lymphoid cells depends on the nature of the stressors. Restrain stress (RS) or antigenic stimuli induce c-fos and IL-2 gene expression in definite structures of the brain. The dynamics of this process are time dependent. The partial correlation between c-fos and IL-2 mRNA expression in localization in brain structure and time dependence was shown [7].

There was no increase in c-fos mRNA positive cells in the hypothalamus at 30 min. after tetanus toxoid

(TT) injection. Elevation of the c-fos mRNA positive cells occurred in the hypothalamic posterior (PHA), lateral (LHA), anterior (AHA), areas dorsomedial (DMH), and ventromedial (VMH) nuclei within 2 hours of TT administration. In 6 hours the c-fos mRNA positive cells number decreased in PHA, LHA, DMH. There was no response to TT in arcuate and supraoptic hypothalamic nuclei [8].

In Sprague-Dawley rats the number of c-fos mRNA-positive cells in all the hypothalamic structures was insignificant 30 min after injections of tetanus toxoid. c-fos mRNA-positive cells were seen in the posterior, lateral, and anterior hypothalamic fields and in the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei 2 h after injections of tetanus toxoid [9].

In situ hybridization on paraffin sections of the rat brain showed that synthetic peptides Vilon, Epithalon, and Cortagen modulated the expression of IL-2 gene *in vivo* in cells of some hypothalamic structures depending on the terms and routes of administration [10].

In rats c-Fos-positive cells 2 h after administration of lipopolysaccharide were seen in the following hypothalamic structures: AHN, PVH, LHA, VMH, DMH, and PH. After electrical pain stimulation, the number of c-Fos-positive cells increased in these same hypothalamic structures (AHN, PVH, LHA, VMH, DMH, and PH). The combination of electrical pain stimulation and lipopolysaccharide administration led to a decrease in the extent of activation in hypothalamic structures AHN, PVH, LHA, and VMH [11].

Hypothalamic orexin neurons react to injection of LPS in animals [12].

**Glucocorticoids.** Glucocorticoids regulate immune function. Antigen acts on cellular and molecular levels. Changes in glyocorticoid binding sites and cyclo-nucleotides levels occur. Glucocorticoids, and the neuroendocrine system jointly regulate individual clones of immunocompetent cells to generate an immune response [13]. Correlations between endogenous glucocorticoid levels and intensity of humoral and cell-mediated immune responses were studied in different experimental sets. Changes of cyclic nucleotide levels in spleen lymphocytes induced by antigen were shown to depend on the intensity of hormonal shifts. The major significance of the intensity of hormonal changes and the sensitivity of cell populations to hormones for the final hormonal influence, is emphasized [14].

IL-1 was shown to increase the plasma level of corticosterone in rats by ip administration. It also produced a direct effect on the secretion of adrenal cells without enhancing ACTH stimulating action. IL-1 action on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system is implemented through its influence on neurons of the

cerebral hypothalamic areas secreting the corticotrophin releasing hormone [15].

**Cytokines.** Pure human interleukin-1 beta (IL-1 beta) and interleukin-6 (IL-6), both of natural origin, were found to cause fever in rabbits when injected into the PO/AH region of the brain. The threshold dose required for this effect was between 0,4 and 4 U, equivalent to 0,04 to 0,4 ng for IL-1beta, and around 50 U, equivalent to 0,05 ng for IL-6. From this it was estimated that this area of the brain responds to a local concentration of approximately 1 ng/ml of these cytokines, a level which can easily be reached after intravenous administration of threshold pyrogenic doses of either cytokine. The observation supports the view that fever induced by systemic endogenous production of IL-1 and IL-6 is due to a direct effect on the thermoregulatory center and may not require production of mediators, such as prostaglandins, at sites distant from the center [16].

LPS induced fever, released defensins and initiated IL-1 production. Thus, defensins may be involved in thermoregulation and may influence IL-1 secretion [17].

Deletion from human recombinant IL-1, serine, asparagine and aspartic acid (positions 52–54), significantly reduced functions. The resulting molecule (SND) acted on the immune system, as an IL-1 antagonist [18].

Sphingomyelin is involved in Interleukin 1 beta (IL-1) signaling in membrane fraction P2 of murine brain. IL-1 beta activated dose-dependently nSMase in P2 fraction of the brain cortex. Brain cortex membranes from mice deficient in the type I IL-1 receptor and of IL-1 receptor antagonist inhibited this response [19].

Injection of 5% mustard in vegetable oil, an injection of vegetable oil and needle prick was applied into leg gastrocnemius muscle of rats. Expression of *c-fos*-like proteins was shown after the injection (within 2 h) in the *spinal cord structures*, the maximum quantity of the labeled cells was found in the I and II sacral segments (in the superficial lamina of the gray matter of the dorsal horns in the ipsilateral side), the minimum in the IV and V lumbar segments (in the intermediate zone of the gray matter at the level of the central canal). *c-fos* immunoreactivity appeared mostly in the *contralateral side of the hypothalamus*, therefore maybe in our investigation the mechanism of sensory stimuli mostly results in the changes that have been obtained. The information of applied stimulus arrived in the spinal cord, and it was transmitted to the brain where it activated certain brain structures inducing *c-fos* and IL-2 gene expression. The most important conclusion is that the used stress induced not only *c-fos* gene but also IL-2 gene expression in the brain. The synthesis of both mRNA takes place in the same brain structures [20].

This peptide (Lys-Glu) is the shortest regulatory fragment promoting the transport of trans-acting factors

into the nucleus. It can not be excluded that Lys-Glu is a structural component of trans-acting factor active centers, which are necessary for the activation of interleukin-2 gene transcription in lymphocytes [21].

IL-1beta signaling in the CNS is mediated by the IL-1 type I receptor and neutral sphingomyelinase, the initiating enzyme of the sphingomyelin cascade [22].

IL-1beta signals in the CNS is mediated by the IL-1 type I receptor and activation of neutral sphingomyelinase as the initiating enzyme of the sphingomyelin cascade in mouse cerebral cortex cells [23].

The synthetic peptides Vilon (Lys-Glu), Epithalon (Ala-Glu-Asp-Gly), and Cortagen (Ala-Glu-Asp-Pro) *in vitro* activated interleukin-2 mRNA synthesis in splenocytes from CBA mice in the absence of specific inducers. The intensity of interleukin-2 mRNA synthesis in splenocytes depended on the type, concentration, and duration of treatment with the peptides. Vilon and Epithalon were most potent, while Cortagen produced a less pronounced effect on interleukin-2 mRNA synthesis [24].

The number of hypothalamic IL-2-containing cells changed in rats receiving Vilon and Epithalon during mild stress (handling). The number of IL-2-positive cells in hypothalamic structures decreased 24 h after intramuscular injection of Epithalon and 2 h after intranasal administration of the test peptides. Adaptation of animals to experimental conditions prevented the decrease in the number of IL-2-positive cells in the supraoptic nucleus after intranasal administration of Epithalon.

Parallel analysis of *c-Fos* protein expression during activation of the rat anterior hypothalamic cells, and expression of interleukin-2 (IL-2) after mild stress (handling) and adaptation to it, and intranasal administration of saline and the peptides Vilon (Lys-Glu) and Epithalon (Ala-Glu-Asp-Gly). The expression of *c-Fos* gene and IL-2 production were studied in the lateral (LHA) area, anterior (AHN), supraoptic (SO) and paraventricular (PVH) nuclei of Wistar rats. A negative correlation was found between the activation of cells and their IL-2 contents [25].

**Defensin.** The human neutrophil peptide *defensin* (0,1–40 micrograms/mL) did not promote platelet aggregation, but decreased platelet aggregation responses to ADF, collagen or thrombin, inhibited ATP levels, which was released during platelet aggregation and malondialdehyde production, induced by thrombin and collagen. Therefore defensin is an antagonist of platelet aggregation [26]. Defensins had corticostatic activity *in vivo* in stress- and ACTH-induced elevation of corticosterone. Also defensins abolished the immunosuppressive action of stress in animals. Thus *defensins protect against stress* [27].

Defensin, a peptide derived from human neutrophils, (0,01 microgram/mL – 100 micrograms/mL) caused a distinct dose dependent aggregation of normal donor monocytes. and increased the rate of *monocyte aggregation*, induced arachidonic acid or phorbol myristate acetate [28].

**Signal Transduction.** The sphingomyelin pathway of IL-1beta signal transduction is one of the principle signal mechanisms providing realization of most, if not all, biological effects of this cytokine. *Sphingomyelinase* (*nSMase*) catalyses the hydrolysis of membrane shingomyelin to the secondary cellular messenger *ceramide*. It has been established that IL-1beta operation in the CNS involves IL-1 type beta1 receptor and the shingomyeline pathway of cytokine signal transduction into the cell. Type 1 IL-1 receptor is necessary. Change in nSMase activity in membranes of nerve and immunocompetent cells is the common link in the stress reaction of neuroendocrine and immune cells [29].

Modifications of serum glucocorticoids in mice induced changes in neutral sphingomyelinase activity in the Immune- and Nervous Systems. Thus, sphingomyelin regulates IL-1beta signaling, which might be useful to affect glucocorticoid mediated immunoregulation [30].

Endogenous glucocorticoids in mice induced changes in neutral sphingomyelinase activity in the immune and nervous systems. Thus, IL-1beta might be useful to treat abnormalities of glucocorticoid mediated immunoregulation [31].

**Stress.** It was shown that NMS increases the c-Fos positive cell quantity in the lateral hypothalamic area (LHA), ventro-medial (VMH), dorso-medial (DMH) hypothalamic nuclei and anterior hypothalamic area (AHN) by 116, 199, 101 and 157% respectively, in comparison with the c-Fos immunoreactive cell quantity in intact animals. EHF irradiation of the skin decreased the intensity of c-Fos-like proteins synthesis induced by NMS in the most of the investigated structures (LHA, VMH, DMH and AHA by 32,8, 29, 15 and 33%, resp.) [31].

IL-1 is released by various stress reactions from lymphoid target cells, and in turn IL-1 signals nerve tissue via the sphingomyelin pathway [32].

*Rotation stress* induced macrophage release of LAF with peak reactions in 0–1 h after termination of stress, followed by elevation of plasma IL-1alpha. Induction of LAF release was accompanied by a higher concentration of corticosterone (Cs) in the blood, most prominent at 0 and 0,5 h after termination of the stressful procedure, and recovering to normal values 1 h later [33].

Cold stress suppressed the response of peripheral blood lymphocytes to IL-1beta.

IL-1beta administrated i.p. to rats before cooling was immunoprotective. Thus IL-1beta modulates immunological and neuroendocrine responses during stress [34].

Activation of c-fos gene expression has been shown in cells of the hypothalamus of rats after exposure to noxious mechanical stimulation (NMS) by itself and after NMS combined with EHF irradiation of the skin. The «stress» reaction of cells in specific hypothalamic structures has been shown to be decreased after EHF exposure of the skin [35].

The results provided conclusive evidence of Epithalon's stress-protective effect at the level of IL-1beta signal transduction via sphingomyelin pathway in the nerve tissue, as well as at the level of target thymocyte proliferation [36].

In rats c-Fos-positive cells 2 h after administration of lipopolysaccharide were seen in the following hypothalamic structures: AHN, PVH, LHA, VMH, DMH, and PH. After electrical pain stimulation, the number of c-Fos-positive cells increased in these same hypothalamic structures (AHN, PVH, LHA, VMH, DMH, and PH). The combination of electrical pain stimulation and lipopolysaccharide administration led to a decrease in the extent of activation in hypothalamic structures AHN, PVH, LHA, and VMH [37].

**Cholinergic immunoregulation.** Electrolytic lesions of the *anterior hypothalamus* increased significantly the muscarinic antagonist, [<sup>3</sup>H] quinuclidinyl benzilate ([<sup>3</sup>H]QNB) -specific binding in thymocytes 7 days after neurosurgery. Lesions of other hypothalamic structures (area preoptica medialis, area hypothalamica posterior) or sensomotor cortex had no effect. Lymphocytes isolated from rat spleen or peripheral blood were not affected. Both T-cell-dependent (sheep red blood cells) and T-cell-independent (Vi antigen of *Salmonella typhi*) antigens induced a significant increase in [<sup>3</sup>H]QNB-specific binding in spleen lymphocytes while peripheral blood lymphocytes did not change. A different pattern of lymphocyte m-AchR expression found in various lymphoid tissues after immunization or brain lesions suggests a local involvement of cholinergic mechanisms in neuroimmune interaction [38].

Peroral administration of phosphor-organic pesticide antio (phormothion) 1/100 and 1/20 LD50 induced the dose-dependent inhibition of splenocyte acetylcholine-esterase activity after 2 months of treatment. It is suggested that the immunosuppressive action of pesticide is manifested by interfering with cholinergic mediation that regulates lymphoid cell function [39]

**Opioid peptides.** Rabbits and mice were injected with the opioid analog, leu-enkephalin-dalargin (D) or naloxone. Injection of D with IL-1 to mice decreased ( $\times 1,5$ ) C-reactive protein (CRP) as compared to controls. Naloxone injected with saline or D prior to IL-1, prevented IL-1-induced rise in CRP level and of the pyrogenic IL-1 induced anti-nociceptive impulses on the

CNS of *rabbits*. Thus opioids inhibit cytokine induced inflammatory mediators at the level of cell receptors [40].

**Thymus.** Immunomodulating effects of synthetic peptides *Vilon* (Lys-Glu), *Epithalon* (Ala-Glu-Asp-Gly), and *Cortagen* (Ala-Glu-Asp-Pro) and possible involvement of the sphingomyelin signal transduction pathway in their effects in mouse thymocytes were studied. *Vilon* produced the most potent comitogenic effect on thymocyte proliferation and modulated comitogenic activity of interleukin-1b. *Epithalon* was less potent, while *Cortagen* produced no such effects. *Vilon* produced a more pronounced stimulatory effect on *sphingomyelinase activity* in mouse thymocyte membranes compared to *Epithalon* and *Cortagen* [41]. A stereotactic electrolytic lesion of the anterior hypothalamic area in mice produces a rapid involution of the thymus and a reduction of lymphocytes in the peripheral blood. This effect on the thymus and blood lymphoid compartment can be prevented by postoperational administration of thyrotropin-releasing hormone (TRH) or melatonin. These activities of TRH or melatonin are antagonized by the opioid receptor blocker naltrexone. They do not seem to depend on stimulation of the thyroid gland or of the endogenous opioid system but rather on a direct activity of TRH on thymic targets or binding sites on lymphocytes [42].

**Natural killer (NK) cells.** The effect of cyclophosphamide-containing drug, *Cytoxan*, on activation of hypothalamic neurons involved in the regulation of natural killer cell activity in the spleen and changes in cytotoxicity of these cells. Administration of *Cytoxan* in a dose of 60 mg/kg increased the number of *c-Fos*-positive cells in the ventromedial hypothalamus and lateral hypothalamic area and reduced interferon-alpha-induced cytotoxic activity of natural killer cells [43].

**Anesthesia.** Synthesis of *c-Fos*-like proteins occurred only in the spinal cord in conditions of constant 1,5% *halothane anesthesia*. The pattern of brain structures reacting to *mechanical pain stimulation* with expression of *c-Fos*-like protein was identified. This type of stimulation was shown to induce increases in the quantity of *c-Fos*-positive cells in the lateral hypothalamic area (LHA), the ventromedial (VMH) and dorsomedial (DMH) hypothalamic nuclei, and in the ventral hypothalamic area (AHA) by 116%, 167%, 101%, and 157% respectively. *Skin irradiation with UHF currents* decreased the intensity of mechanical pain stimulation-induced synthesis of *c-Fos*-like protein in most structures (LHA, VMH, DMN, and AHA by 32,8%, 29%, 15%, and 33% respectively. Only induction *halothane anesthesia* allowed identification of hypothalamic structures reacting to mechanical pain stimulation and the modifying effects of irradiating the skin with UHF currents on the intensity of these reactions

[44]. *The inhibitory stimulus also activates c-Fos in inhibitory nuclei of the hypothalamus!!!*

**Nonspecific resistance.** The authors studied the level of proteins in the acute phase of inflammation and the level of glucocorticoid hormones, the leukocyte composition, the functional activity of the peripheral blood phagocytes, and the body temperature in rabbits under normal conditions and in subcutaneous turpentine injection in transcranial electric stimulation in the analgesia regimen. Changes of the studied parameters and activation of the mechanisms of the organism's nonspecific resistance occurred on a model of aseptic inflammation [45].

**Autoimmunity.** Monkeys (*Macaca mulatta*), both sexes were repeatedly immunized with a complex of glial antigens of the homologous brain demonstrated abnormalities of hormonal functions after 1 to 5 weeks. These abnormalities were marked by a decrease in the total serum tyroxine (after 1 week) and a rise in the concentration of 11-hydroxycorticosteroids (11-OHCS) that occurred after 5 weeks. The changes in tyroxine level were more stable than those in the concentration of 11-OHCS. The immunized animals manifested changes in the disc electrophoregram of the serum. Application of stress resulted in a consistent elevation of the concentration of 11-OHCS and in temporary changes in the number and intensity of individual fractions of serum proteins. The fractional composition of serum proteins was different in control and experimental monkeys [46].

Adaptive-transfer of experimental autoimmune encephalomyelitis is an inflammatory neurodegenerative disease which is induced by injection of activated encephalitogenic T-cells. Encephalitogenic T-cells ultimately migrate through spleen and parathymic lymph nodes regardless of the start point of cells migration after i.p. and i.v. injection [47].

**Chronic fatigue syndrome (CFS).** In chronic fatigue syndrome (CFS) interaction between the immune and neuroendocrine systems is disturbed. A similar syndrome may be induced in animals by injecting double-stranded RNA of poly I-C. Cytotoxic and proliferative activities of splenocytes was disturbed during CSF development. Neutral sphingomyelinase (nSMase) — the key enzyme of the sphingomyelin cascade — in membranes of cells in brain cortex, was expressed on the 3d day after Poly I : C administration to rats. Poly I:C disturbed HPA axis functions which led to decreased corticosterone concentrations [48].

**Orexin and immunity.** Orexin mRNA A and B and their receptors; connections between orexin neurons and neurons from different structures of the brain and spinal cord and the participation of the orexin neuron system in the functional regulation are discussed [49].

Injection of cyclophosphamide (40 mg/kg) or EHF-irradiation of the skin decreased the staining of orexin-

containing neurons, which was most pronounced in the subformal region of the lateral hypothalamic area (LHAs). A redistribution of orexin from the perinuclear space to the processes of these cells took place, which occurs after the activation and the expression of the *c-fos*-gene. *c-Fos* protein was expressed in most neurons with minimum content of orexin, i.e. activation of these neurons correlated with the redistribution of orexins caused by skin EHF-irradiation and injection of cyclophosphamide (CPA) [50].

Orexin is a hypothalamic peptide, a neurotransmitter described in 1998. The brain respond to antigenic challenge by activating preproorexin and orexin containing neurons, which suggest that the orexin system participates in immune defense [51].

Orexin neurons react to injection of LPS in animals [52].

Localization of orexin receptors in various CNS structures and in peripheral organs mediates regulation of different physiological functions by orexins. Low concentration of orexins in peripheral blood and orexin-containing cells in ganglions and internal organs suggests a possibility to activate orexin-sensitive cells distantly, paracrinely or autocrinely [53].

**Major contributions which are not listed in PubMed. Defensins.** Defensins are antimicrobial cationic peptides with a cysteine-stabilized amphipathic structure. These substances are normally localized in phagocytes (neutrophil, monocyte/macrophage) and in the epithelial cells of mucous membranes and skin. Some defensins are released into the blood during the course of infection, inflammation and stress. Defensin functions not only as endogenous animal antibiotic molecules, killing microbial cells and enveloped viruses, but also as physiological regulators. Defensins are implicated in the regulation of endocytosis, chemotaxis, mast cell degranulation and inflammation. Moreover, these molecules are modulators of hemostasis and neuroendocrine-immune interaction. Defensins lower the stress-induced elevation of corticosteroid levels in the blood, and abolish the stress-induced inhibition of the humoral immune response. These facts support the hypothesis that defensins are antibacterial peptides with a broad spectrum of biological activity [54].

I was the Editor the Book series, Neuroimmune Biology in 2008 and planned a volume on *Cytokines and the Brain* to be published in this book series. After some consultation I felt that this volume though challenging, it is a good idea. The research interest of Elena Korneva from Russia and of Christopher Phelps from the USA were right to edit this volume. The work was going very well and success seemed obvious when Phelps suddenly died, so Elena had to finish the work with my assistance. All of the sudden she became an expert book Editor, she

did just fine on this job. I prepared a shortened version of her closing remarks for the book, so the reader would see what was the significance of this volume [55].

**Concluding remarks to NIB 6.** Neuroimmune Biology investigates the role of the Nervous and Endocrine Systems in the regulation of Immune System. Numerous mechanisms are involved. Cytokines in brain Physiology and Pathophysiology has only been considered recently.

«*Cytokines and the brain*» is one of the first books addressing this comprehensive research area. Well-known scientists are dealing with the basic and applied aspects of these multifaceted problems.

The blood-brain-barrier (BBB)-cytokine interactions are important for physiological neuroimmune interactions. Cytokine-BBB interactions are not static, they respond to physiological and pathological events. IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, TNF (and others) are transported. Cytokine transport/release is selective. These mechanisms might change under pathologic conditions, which is of special importance.

Important progress has been made in the role of cytokines in neuronal interaction, including the regulation of synaptic functions. Many cytokines are shown as signaling molecules for neurons of the CNS. Each cytokine can influence many cell types and exert many different effects, while acting by autocrine, paracrine or endocrine mechanisms.

TNF regulates synaptic plasticity in regions of the brain associated with learning and memory. IL-1, depending on its concentration, can either promote or inhibit synaptic plasticity. IL-6 predominantly plays a protective role. It improves the survival of neurons, and attenuates pain signals.

Interferons and chemokines are also involved. Disorders play a role in the development of many neurological diseases.

Cytokine receptors of brain cells, the role of the receptors, the significance of their density and affinity for neuronal functions, etc. are discussed.

Immunostimulation and inhibition can be elicited at will during various forms of stress, which results in increased blood glucocorticoids and IL-1. The localization of cytokine receptors in different brain structures indicates the function of brain neurons and brain nuclei.

IL-1 $\alpha$  and IL-1 receptors play an important role in coordinating HPA reactions during stress. CRF is participating in modulating IL-1 receptor affinity under stress... Stromal elements contribute to the regulation of brain cells in a major way.

This volume of NIB gives insights to changes in the functional activity of neurons as influenced by cytokines, and to their effects on some CNS functions, including

sleep, feeding behavior, memory, and involvement in biological defense system, cytokine effects on animal behavior and the role of lateralization of cytokine production.

Sex hormones, in particular estrogen, have a role in brain tissue regeneration and brain functional recovery, and involved with cytokines. Estrogen and the cytokines stimulated by sex hormones may be useful for optimization of treatment of patients receiving stem cells therapy.

«Cytokines and Brain in stress and Pathology» a chapter of this book indicates that investigations into the roles and mechanisms of cytokine involvement in brain functions are very promising [56].

#### **Signal Transduction By IL-1 and IL-2.**

Cytokines play an important role in the communication of neuroendocrine and immune systems. It is of special interest how the cytokine signals are transmitted in nerve and immunocompetent cells. Interleukin-1beta (IL-1beta) is one of the key cytokines that regulate host defense. And it is an important mediator of neuroimmune interaction. However, the pathways of signal transduction by IL-1beta have not been fully elucidated. Over the last decade a new sphingomyelin signal transduction pathway has been described for IL-1beta, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. This pathway is initiated by the membrane bound enzyme, neutral sphingomyelinase (nSMase), which was shown to play a key role in the sphingomyelin cascade. Recent studies have demonstrated that IL-1 receptor subtype 1 and an accessory protein are involved in the activation of nSMase by IL-1beta. In turn nSMase activation initiates intracellular signaling by the sphingomyelin pathway in nerve cells. It was suggested that the pathway for transmission for IL-1beta signal into nerve cells, astrocytes and immunocompetent cells are similar and include the activation of nSMase. Further experiments suggested that IL-1beta is involved in the stress reaction and that cytokine signaling through the sphingomyelin pathway play a role in the stress response of both nerve and immune cells. The data reviewed in this paper provide compelling evidence that glucocorticoid hormones and short immunomodulatory peptides are able to modify the sphingomyelin pathway of IL-1beta signaling in cells of both the neuroendocrine and immune systems [57].

#### **c-Fos gene and IL-2 expression in the brain.**

This article summarizes the expression of immediate-early genes (IEG): c-fos gene, encoding one of the interleukin-2 (IL-2) cytokine transcriptional factors — c-Fos, and IL-2 genes in brain cells. The main molecular features and tissue-specific differences of IL-2 and IL-2 receptors in the brain are discussed. The expression of c-fos and IL-2 genes in CNS neurons has been shown after different stressor stimuli. An application of these stimuli activates the processes of IEG expression in the cells of hypothalamic structures.

Antigen injection leads to activation of c-fos and IL-2 genes in the cells of hypothalamic nuclei and areas of rat brain. The definite temporospatial pattern of activation of hypothalamic structures in response to antigen was noted, which is not equal to one induced by other stressors.

The IEG expression in immune and nervous system cells can be modified by using short synthetic immunomodulating peptides. Definite physical factors, like EHF skin irradiation, modulate (mostly decrease) stress induced stimulation of IEG genes expression in hypothalamic neurons. The JAK-STAT and Ras-MAPK signal transduction pathways mediate IL-2 gene expression in lymphocytes and in nervous cells [58].

**Immune response in the CNS.** Chemo-attractant cytokines participate in the CNS not only in pathological situations but also in physiological functions. They influence neural and glial cells proliferation and migration during the process of CNS development.

Molecules of the major and minor histocompatibility complexes are present in neurons. Neurons produce cytokines, and their repertoire being quite extended. Immunocompetent cells, including T-lymphocytes, can enter the brain under pathological conditions. Antigen presentation to brain tissue does not elicit an adaptive immune response, but rather evokes reactions, including cytokine production, as a part of innate immune response. IL-1 $\beta$  is present in the normal brain, and its expression increases upon parenteral administration of LPS. IL-1 $\beta$  regulates neuronal survival and contributes to the realization of the neuroendocrine response to stress, the latter being brought about by IL-1 $\beta$  expression in the neuroendocrine nuclei of the hypothalamus. *De novo* IL-1 $\beta$  synthesis in the blood-brain barrier upon infections contributes to behavioral responses to infections. Especially interesting are the data about IL-1 $\beta$  involvement in normal brain physiology.

Cytokines of astrocytes stimulate neurons and their synaptic integration. Astroglia also produce cytokines and influence the development of neural diseases and neuro-immune interactions, IL-1 $\beta$  and IFN- $\alpha$  stimulate the electrical activity of the efferent nerves of the spleen and reduce NK-cell activity. These cytokines produced in the brain and may be key factors of stress-induced immunosuppression. The sympathoadrenal system and norepinephrine interact with the nervous and immune systems during inflammation. Norepinephrine is released by lymphocytes in the modulation of immunological processes.

IL-2 is involved in the mediation of brain responses to stressors and to antigenic stimuli. The IL-2 gene is expressed at a low level in brain neurons and glial cells under normal conditions. Increases in IL-2 mRNA occur under stress or after antigenic stimulation, which may be modulated by therapeutic drugs.

Some of the inflammatory cells in the CNS and PNS promote repair and reduce the extent of damage of nerve cells after insult and injury. This information may serve for the development of novel therapeutic approaches for neurological diseases.

The development of autoimmune pathological processes in the brain particularly, in the case of multiple sclerosis, is associated with increased blood and brain levels of proinflammatory cytokines (IL-1, IL-2, TNF- $\alpha$ , and interferons).

This book helps the development of Physiology and Pathophysiology of the Central Nervous System. Brain cytokines represent a novel and important area of Neuroimmune Biology. There is a lot to be discovered yet in this area [59].

**History of Neuroimmune Biology.** In the literature, the research field under consideration is designated with several names including Immunophysiology, Neuroimmunomodulation, Psychoneuroimmunology, and the most general one, Neuroimmune Biology. They all are used as synonyms although each one stresses a specific aspect.

The term «Neuroimmunomodulation» emphasizes that the Neuroendocrine System and the Immune Systems forms a systemic regulatory circuitry which regulates the entire host organism. The term «Psychoneuroimmunology» highlights the role of the psychic and neural factors in the development of immunological processes, and the terms «Immunophysiology» and «Neuroimmune Biology» define the whole issue in the most general way as studies of interaction of the neuroendocrine and the immune systems. Ultimately it is biology, what we are dealing with.

The subject of this discipline includes both, the external (e.g. neural, endocrine or other humoral) mechanisms that control the functions of the immune system and the role of immune mechanisms in the functioning of the neuroendocrine system.

At the present-time biomedical science features an unprecedented progress in Neuroimmune Biology manifested as an avalanche of new data, organization of new laboratories, publication of new journals and allocation of ever increasing funds to research in this field.

A reason for so high activity is probably not only the desire to decipher blank spots still present in our knowledge but, also, the promise of making medical use of the new information so obtained. Here a brief history of this exciting field of scientific enquiry is presented [60].

**Neural response to stress and antigen.** The specificity of central nervous system (CNS) response to different destabilizing stimuli is discussed. Hypothalamic neurons are involved in brain reactions to various stimulants. The effects of stress and antigenic stimulation on

the hypothalamus are reviewed. Previously it was known that the brain responds specifically to various patterns of stimuli, which depends on the nature and intensity of the stimulus. Antigens have a special place amongst the stimuli applied to the brain. The effects of antigen depend on their biochemical nature though they also are considered to be stress factors [61].

**Signaling mechanisms in stress.** The comparative role of Interleukin-1 $\alpha$ /Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\alpha$ /IL-1 $\beta$ ) production, blood levels and ligand-receptor interactions of IL-1b with its immune and nerve target cells was analyzed. We also investigated intracellular signal transduction via the sphingomyelin pathway during the development of stress reaction. In mice stress of different durations and intensities induced increased concentrations of glucocorticoids and of IL-1 $\alpha$ /IL-1 $\beta$  in blood. Thymocytes and lymphocytes responded to the concomitant actions of IL-1 $\alpha$ , which correlated with changes in the humoral immune response. These events coincided with stress-induced changes in the activity of neutral-sphingomyelinase, the key enzyme of the sphingomyelin cascade, in membrane fractions of mouse cerebral cortex and of thymocytes. It is indicated that the function of immune and nerve cells is changed. Lymphocyte and thymocyte proliferation and cytotoxic activity of splenic natural killer (NK) cells, the intensity of cytokine signal transduction in the cells of the immune and neuroendocrine system, indicate immune and neural-immune responses to stress [62].

**Orexin in the CNS and in immune organs.** The number of orexin containing neurons is relatively low. They are located in the hypothalamus mostly in the LHA, but projections extend into brain and spinal cord neurons. A wide range of cells express orexin receptors. The orexin system regulates a variety of functions. The presence of orexin containing cells and their receptors in peripheral organs (spleen, liver, gut, etc.) is a recent finding.

Since low levels of orexins were found in the blood and cerebrospinal fluid, there is reason to believe that orexin may fulfill humoral regulatory functions.

It may be concluded on the basis of current evidence that orexin containing neurons respond to antigenic stimulation of the host, and that the CNS also responds to this antigen. It must be stressed that only designated neurons respond to antigenic stimulation.

Combined results indicate that there are changes both in synthesis and utilization of neurons during physiological function. It must be taken into consideration that utilization is intense, and that the level of orexin neurons is low, even if the level of preproorexin is significantly increased. Thus orexin neurons regulate immune function [63].

Orexin-containing neurons and neurotransmitters of orexin A and B were shown to be involved in brain res-

ponse to stress. Here we review new experimental data about the involvement of orexin neurons in brain reactions to stressors (hunger, hypoglycemia, immobilization, pain, etc.). Recent evidence shows that the release of orexin A and B affect the secretion of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones in response to stressors. Hypothalamic orexin-containing neurons depend for activation on applied stimulation. The patterns of morphological and functional changes of orexin-containing neurons, which are localized in various hypothalamic structures, were analyzed after various stressors (eg. restraint stress, cold stress, antigen application). The analysis of the literature and our own data suggest functional identity of populations of orexin-containing neurons in the perifornical part of hypothalamus. The reactions of orexin-sensitive cells of the hypothalamus, midbrain, medulla, spinal cord and immune organs to antigen injections in different doses reflect changes in the function of orexinergic cells. These data indicate the participation of orexin system in brain reaction to various kinds of stressors [64].

Multiple sclerosis (MS) patients frequently complain of fatigue and sleep disturbances and orexin is a neuropeptide known to play crucial role in sleep/wakefulness regulation and in many other physiological functions. Hypothalamic orexin neurons were studied during adoptive transfer to rats of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Though the total quantity of orexin-positive cells was decreased in EAE animals, differential counts of these neurons revealed discrete hypothalamic zone responses. Three possible variants could be distinguished: reduction of orexin-positive neurons quantity with no changes in their RTD (DMHa, LHAd, LHAvm); increase of RTD with no alterations in quantity (more medial hypothalamic structures); quantity was reduced and RTD was increased (in more lateral hypothalamic structures). The preproorexin gene expression in hypothalamic cells of EAE animals was slightly increased, indicating the possible increase of orexin synthesis. EAE induction decreased orexin neurons and synthesis and utilization was increased. Hypothalamic orexinergic neurons participate in CNS response to EAE, which could be important for understanding the pathology of multiple sclerosis [65].

**Neuroimmune pathology of stress.** These preparations of peptides and nucleotides are known to be effective modulators of the immune and neuroendocrine systems. Here we discuss a new concept, which suggests that endogenous short peptides and their synthetic analogues, bind to specific sequences of nucleotides in DNA. These site specific peptide-DNA interactions modulate cellular genetic functions and form the basis of molecular-genetics of stress-protective short synthetic peptides.

Protective action of nucleotide preparations on impaired functions of the immune and neuroendocrine systems was shown. It seems that these effects are based on the ability of nucleotides to penetrate cells and subsequently splitting into nucleotides, which, after release by the cells, bind to purinergic P2 receptors. These results indicate that short peptides and DNA preparations are capable of correcting stress-induced impairment on neuroimmune function.

Multiple sclerosis (MS) patients frequently complain of fatigue and sleep disturbances and orexin is a neuropeptide known to play crucial role in sleep/wakefulness regulation and in many other physiological functions. Hypothalamic orexin neurons were studied during adoptive transfer to rats of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Though the total quantity of orexin-positive cells was decreased in EAE animals, differential counts of these neurons revealed discrete hypothalamic zone responses. Three possible variants could be distinguished: reduction of orexin-positive neurons quantity with no changes in their RTD (DMHa, LHAd, LHAvm); increase of RTD with no alterations in quantity (more medial hypothalamic structures); quantity was reduced and RTD was increased (in more lateral hypothalamic structures). The preproorexin gene expression in hypothalamic cells of EAE animals was slightly increased, indicating the possible increase of orexin synthesis. EAE induction decreased orexin neurons and synthesis and utilization was increased. Hypothalamic orexinergic neurons participate in CNS response to EAE, which could be important for understanding the pathology of multiple sclerosis [66].

Orexin containing and orexin sensitive neurons regulate brain responses to antigen. LPS injection alters the orexin contents of neurons, affects the intensity of preproorexin gene expression and of orexin receptor gene expression [67].

#### CONCLUDING REMARKS.

**Positions held (from Kornev's CV).** 1965–69, head sci. organizing dept., 1969–75, head lab. Neuroimmunology, 1975, head dept. gen. pathology and pathophysiology, 1982–2014; scientific consultant 2014, prof. pathophysiology St. Petersburg (Russia) State U. Sch. Medicine, St. Petersburg, Russia, 1997, Chair of All USSR Comm. On Physiol. Mechanisms of Host Resistance, 1982–90; mem. State Highest Attestation Commn.

**Medals, Prizes and Distinctions (From CV).** Recipient Pres. award, ISNM, 1990, Gold medal, Russian Immunology Soc., Internat. Soc. Immunorehabilitation, 2004, Laureate prince P. Oldenburgsky prize, Inst. Exptl. Medicine, 2009. Mem. Internat. Soc. NeuroImmunoModulation (co-founder, bd. dirs., Presdl. citation 1990), Fund of

Psychoneuroimmunology(hon.dir.), Internat.Rsch. Soc. Psychoneuroimmunology (co-founder, bd. dirs. 1993–95), Internat. Soc. Immunorehab. (hon.), NY Acad. Scis., Internat. Soc. Neuroscis., Immunological Soc. (pres. St. Petersburg br. 1985), Nat. Sci. Soc. For Neuroimmunology, NeuroImmunoModulation (pres. 1992), Internat.Soc. Pathophysiology, Acad. Med. Sci. USSR (corr. 1986), Russian Acad. Med. Sci. (academician 1996, chmn. Neuroimmunophysiology problem com. of sci. coun. of exptl. and applied physiology, 1990, Disting Scientist of Russia award 2000), Japanese Soc. Pathophysiology (hon.), Inst. Exptl.Medicine (hon.). Democrat. Avocations: painting, theatre, hunting forest mushrooms.

#### Books, book chapters and Editorial work.

1. 1985–90. Author: Evolution of Reflex Regulation of Cardiac Activity, 1965 (in Russian),
2. Neurohumoral maintenance of immune homeostasis, 1978,
3. The regulation of defense functions of the body, 1982,
4. Hormones and Immune Systems, 1986;
5. **Interaction of nervous and immune systems. Molecular and cellular aspects / St. Petersburg / Nauka / 2012, p. 173.**
6. editor: Handbook of Immunophysiology, 1993;
7. **co-editor Cytokines and the Brain, NeuroImmune Biology Elsevier 2008.**
8. Editor; Brain, Behavior and Immunity.1986–98.
9. Editor; Internat. Jour. Neuroimmunomodulation, 1993–2000.

#### Korneva's letter to me describing the early history of Immuno-Physiology. Dated 11/11/2014.

«I'm sending you the draft of my last talk on the forum, «Actual problems of fundamental medicine» in Ekaterinburg. This lecture gave a short history of neuroimmunophysiology development.

«As it is known that S. Metalnikov is the founder of Neuroimmunophysiology (1925). Since that time some investigations have performed similar studies in different labs, but mostly not systematically, some of them successful, but not always. In 1957 in Saint-Petersburg, Institute for Experimental Medicine, Academician D. Biryukov, physiologist, initiated the beginning of this field. Academician V. Ioffe accepted this suggestion and the experiments of this project was started: H. Korneva and L. Khai were asked to do this project. After 3 years of work it become clear that the only possible explanation of our experimental results is to conclude that all the immune responses we observed were dependent on CNS action... We destroyed hypothalamic structures carefully, so the size of lesion was very small. To our surprise, intensive inhibition or intensive increase of antibody production

was observed after operation on AHP. Surely, these experiments indicted the beginning of new foundations of biological sciences.

By the 1960-s similar investigations were developed in many scientific centers in USSR. Little bit later a very different and emotional discussion took place in our country. Academician A. Ado initiated the commission to stop these investigations and our lab was to be closed. This situation was very dangerous, especially if you keep in mind the difficult events in physiology and genetics in our country. Two persons saved the lab and the development of this field: academician N. Bekhtereva, the director of IEM, physiologist, and academician R. Petrov, he was the main immunologist in USSR. These actions were of historically important.

But the discussions were prolonged, and they were still dangerous. It is likely that process of developing neuroimmunophysiology in other countries was not easy either. The physiologists accepted this new field easily, because for them the body was the whole organism. But immunologists at that time were working mostly with the cells or reactions *in vitro*. At that very time I was invited to Stanford to give a lectures (1967), but of course it was not permitted to go, and professor George Solomon



**Figure 2.** Elena A. Korneva chairing a presentation in the Immunophysiology Meeting in St. Petersburg, 2009.

came to our lab. As he ruled later, in his last book, «I visited Elena Korneva to find out if the results are a matter of truth and not the next soviet propaganda».

George spent in our lab for two weeks, learned the techniques and documents and sent us his pupil — Margaret Kemeny. Later on they published the article,

which has been done using our model and this stopped the discussion.

Professor Ado accepted this direction as a real one openly in some conferences. The number of labs working in the world in that time was very limited. And all of the people working in the world in this field were invited to first international symposium which took place in Institute for Experimental Medicine in 1978. We couldn't invite only three persons — Istvan Berczi, Filipp, G, and Andor Szentivanyi — because they emigrated from Hungary and on one hand it was not

easy to find them, but more importantly our government would not allow them to come. It was necessary to mention all foreign guests of this symposium, because later on they became the first persons of this direction (G. Solomon (USA), B. Ader (USA), W. Pierpaoli (Switzerland), B. Jankovich (Yugoslavia), N. Spector (USA), H. Besedovsky (Switzerland)). Most of them met each other for the first time, «found» each other and began to organise international societies and journals.

Very best wishes, Elena Korneva»

## REFERENCES

1. Korneva E. A., Khai L. M. Effect of destruction of areas of the hypothalamic region on the process of immunogenesis // *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova.* — 1963. — Vol. 49. — P. 42–48.
2. Korneva, History of Nib. See ref 57.
3. Korneva, Editor Nib6. see Ref. No. 56.
4. Korneva E. A. Immunophysiology as a new scientific discipline // *Fiziol Zh Im I M Sechenova.* — 1994. — Vol. 80. — P. 116–124.
5. Gushchin G. V., Grigor'ev V. A., Platteau B., Bazin H., Korneva E. A. Immunohistochemical analysis of splenic tissue in rats with destruction of the hypothalamic structures // *Biull Eksp Biol Med.* — 1989. — Vol. 107. — P. 319–322.
6. Korneva E. A., Bychkov E. R. Monoamines in the hypothalamic structures in the first few hours after immunization // *Vestn Ross Akad Med Nauk.* — 1992. — Vol. 7. — P. 25–28.
7. Korneva E. A., Barabanova S. V., Golovko O. I., Nosov M. A., Novikova N. S., Kazakova T. B. C-fos and IL-2 gene expression in rat brain cells and splenic lymphocytes after nonantigenic and antigenic stimuli // *Ann N Y Acad Sci.* — 2000. — Vol. 917. — P. 197–209.
8. Nosov M. A., Barabanova S. V., Glushikhina M. S., Kazakova T. B., Korneva E. A. Cell activation in the hypothalamus after exposure to an antigen (based on c-fos gene expression). *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* — 2001. — Vol. 87. — P. 331–340. [Article in Russian]
9. Nosov M. A., Barabanova S. V., Glushikhina M. S., Kazakova T. B., Korneva E. A. Antigen-induced activation of hypothalamic cells (assessed by expression of the c-fos gene) // *Neurosci Behav Physiol.* — 2002. — Vol. 32. — P. 523–528.
10. Kazakova T. B., Barabanova S. V., Novikova N. S., Glushikhina M. S., Khavinson V. Kh., Malinin V. V., Korneva E. A. Synthesis of IL-2 mRNA in cells of rat hypothalamic structures after injection of short peptides // *Bull Exp Biol Med.* — 2005. — Vol. 139. — P. 718–720.
11. Gavrilov Y. V., Perekrest S. V., Novikova N. S., Korneva E. A. Stress-induced changes in cellular responses in hypothalamic structures to administration of an antigen (lipopolysaccharide) (in terms of c-Fos protein expression) // *Neurosci Behav Physiol.* — 2008. — Vol. 38 (2). — P. 189–194.
12. Perekrest S. V., Abramova T. V., Novikova N. S., Loskutov Y. V., Rogers V. J., Korneva E. A. Changes in immunoreactivity of orexin-A-positive neurons after intravenous lipopolysaccharide injection // *Med Sci Monit.* — 2008. — Vol. 14. — P. 127–133.
13. Shkhinek E. K., Korneva E. A., Stark E., Acs Zs., Abaváry K. Glucocorticoid hormones and the immune response // *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova.* — 1984. — Vol. 70 (2). — P. 213–220.
14. Korneva E. A., Shkhinek E. K. Hypothalamo-hypophyseal-adrenal system in the regulation of immunologic processes // *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova.* — 1984. — Vol. 70 (9). — P. 1286–1293.
15. Rybakina E. G., Salai K., Korneva E. A., Shkhinek E. K., Lesnikova M. P. The mechanism of the effect of interleukin-1 on the glucocorticoid level of the blood: the absence of a direct action of interleukin-1 on adrenal cortex cells // *Probl Endokrinol (Mosk).* — 1990. — Vol. 36. — P. 73–76.
16. Lesnikov V. A., Efremov O. M., Korneva E. A., Van Damme J., Billiau A. Fever produced by intrahypothalamic injection of interleukin-1 and interleukin-6 // *Cytokine.* — 1991. — Vol. 3. — P. 195–198.
17. Korneva E. A., Rybakina E. G., Orlov D. S., Shamova O. V., Shanin S. N., Kokryakov V. N. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation, stress, and immunity // *Ann N Y Acad Sci.* — 1997. — Vol. 813. — P. 465–473.
18. Rybakina E. G., Fomicheva E. E., Pivanovich I. Iu., Korneva E. A. Effect of modification of the structure of interleukin-1beta on its physiological activity // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* — 1999. — Vol. 85. — P. 1420–1427.
19. Rybakina E. G., Nalivaeva N. N., Pivanovich I. Iu., Shanin S. N., Kozinets I. A., Korneva E. A. The role of neutral sphingomyelinase in the interleukin-1beta signal transduction in cells of the mouse cerebral cortex // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* — 2000. — Vol. 86. — P. 303–311.
20. Kazakova T. B., Barabanova S. V., Novikova N. S., Nosov M. A., Rogers V. V., Korneva E. A. Induction of c-fos and interleukin-2 genes expression in the central nervous system following stressor stimuli // *Pathophysiology.* — 2000. — Vol. 7. — P. 53–61.
21. Khavinson V. K., Morozov V. G., Malinin V. V., Kazakova T. B., Korneva E. A. Effect of peptide Lys-Glu on interleukin-2 gene expression in lymphocytes // *Bull Exp Biol Med.* — 2000. — Vol. 130 (9). — P. 898–900.

22. Rybakina E. G., Nalivaeva N. N., Pivanovich Y. U., Shanin S. N., Kozinets A., Korneva E. A. The role of neutral sphingomyelinase in interleukin-1beta signal transduction in mouse cerebral cortex cells // *Neurosci Behav Physiol.*— 2001.— Vol. 31.— P. 439–444.
23. Rybakina E. G., Nalivaeva N. N., Pivanovich Y. U., Shanin S. N., Kozinets A., Korneva E. A. The role of neutral sphingomyelinase in interleukin-1beta signal transduction in mouse cerebral cortex cells // *Neurosci Behav Physiol.*— 2001.— Vol. 31.— P. 439–440.
24. Kazakova T. B., Barabanova S. V., Khavinson V. Kh., Glushikhina M. S., Parkhomenko E. P., Malinin V. V., Korneva E. A. In vitro effect of short peptides on expression of interleukin-2 gene in splenocytes // *Bull Exp Biol Med.*— 2002.— Vol. 133.— P. 614–616.
25. Barabanova S. V., Artiukhina Z.E., Ovchinnikova K. T., Abramova T. V., Kazakova T. B., Khavinson V. Kh., Malinin V. V., Korneva E. A. Parallel analysis of c-Fos protein and interleukin-2 expression in hypothalamic cells under different influence // *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2007.— Vol. 93.— P. 150–160.
26. Ashmarin I. P., Tkachenko S. B., Rud'ko I. A., Korneva E. A., Kokriakov V. N., Kubatiev A. A. Effect of defensin on platelet functional activity // *Biull Eksp Biol Med.*— 1993.— Vol. 115.— P. 23–25.
27. Shamova O. V., Lesnikova M. P., Kokriakov V. N., Shkhinek E. K., Korneva E. A. The action of defensins on the corticosterone level of the blood and on the immune response in stress // *Biull Eksp Biol Med.*— 1993.— Vol. 115.— P. 646–649.
28. Tkachenko S. B., Fesenko O. V., Korneva E. A., Ashmarin I. P., Kubatiev A. A. Human neutrophilic defensin modulates the functional activity of the monocytes // *Biull Eksp Biol Med.*— 1993.— Vol. 116.— P. 474–476.
29. Rybakina E. G., Korneva E. A. Interleukin-1 signal transduction in interaction between the nervous and immune systems // *Vestn Ross Akad Med Nauk.*— 2005.— Vol. (7).— P. 3–8.
30. Pivanovich I. Iu., Rybakina E. G., Fomicheva E. E., Korneva E. A. The role of glucocorticoid hormones in interleukin-1 signal transduction via the sphingomyelin pathway // *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2004.— Vol. 90 (6).— P. 781–789.
31. Novikova N. S., Kazakova T. B., Rogers V., Korneva E. A. C-fos gene expression in the rat spinal cord and brain cells during stress and the use of different types of halothane anesthesia // *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2002.— Vol. 88 (11).— P. 1378–1387.
32. Korneva E. A., Shanin S. N., Rybakina E. G. The role of interleukin-1 in stress-induced changes in immune system function // *Neurosci Behav Physiol.*— 2001.— Vol. 31.— P. 431–437.
33. Korneva E. A., Rybakina E. G., Fomicheva E. E., Kozinets I. A., Shkhinek E. K. Altered interleukin-1 production in mice exposed to rotation stress // *Int J Tissue React.*— 1992.— Vol. 14 (5).— P. 219–224.
34. Rybakina E. G., Shanin S. N., Kozinets I. A., Fomicheva E. E., Korneva E. A. Cellular mechanisms of cold stress-related immunosuppression and the action of interleukin 1 // *Int J Tissue React.*— 1997.— Vol. 19.— P. 135–140.
35. Novikova N. S., Kazakova T. B., Rogers V. J., Korneva E. A. C-fos gene expression induced in cells in specific hypothalamic structures by noxious mechanical stimulation and its [correction of it's] modification by exposure of the skin to extremely high frequency irradiation // *Neuro Endocrinol Lett.*— 2002.— Vol. 23 (4).— P. 315–320.
36. Khavinson V. Kh., Korneva E. A., Malinin V. V., Rybakina E. G., Pivanovich I. Y., Shanin S. N. Effect of epitalon on interleukin-1beta signal transduction and the reaction of thymocyte blast transformation under stress // *Neuro Endocrinol Lett.*— 2002.— Vol. 23.— P. 411–416.
37. Gavrilov Y. V., Perekrest S. V., Novikova N. S., Korneva E. A. Stress-induced changes in cellular responses in hypothalamic structures to administration of an antigen (lipopolysaccharide) (in terms of c-Fos protein expression) // *Neurosci Behav Physiol.*— 2008.— Vol. 38 (2).— P. 189–194.
38. Gushchin G. V., Jakovleva E. E., Kataeva G. V., Korneva E. A., Gajewski M., Grabczewska E., Laskowska-Bozek H., Maslinski W., Ryzewski J. Muscarinic cholinergic receptors of rat lymphocytes: effect of antigen stimulation and local brain lesion // *Neuroimmunomodulation.*— 1994.— Vol. 1.— P. 259–264.
39. Gushchin B. V., Khatdarova D. S., Kugusheva L. I., Rozengart V. I., Korneva E. A. The lymphocyte acetylcholinesterase activity in rats poisoned by pesticides // *Biull Eksp Biol Med.*— 1991.— Vol. 111.— P. 144–146.
40. Gritskevich N. L., Korneva E. A. The participation of opioid peptides in forming the nonspecific protective reactions of the body // *Biull Eksp Biol Med.*— 1993.— Vol. 116.— P. 381–384.
41. Khavinson V. Kh., Rybakina E. G., Malinin V. V., Pivanovich I. Y., Shanin S. N., Korneva E. A. Effects of short peptides on thymocyte blast transformation and signal transduction along the sphingomyelin pathway // *Bull Exp Biol Med.*— 2002.— Vol. 133.— P. 497–499.
42. Lesnikov V. A., Korneva E. A., Dall'ara A., Pierpaoli W. The involvement of pineal gland and melatonin in immunity and aging: II. Thyrotropin-releasing hormone and melatonin forestall involution and promote reconstitution of the thymus in anterior hypothalamic area (AHA)-lesioned mice // *Int J Neurosci.*— 1992.— Vol. 62.— P. 141–153.
43. Rybakina E. G., Novikova N. S., Abramova T. V., Shanin S. N., Kozinets I. A., Rogers V., Korneva E. A. Expression of the c-Fos gene in hypothalamic cells and cytotoxic activity of natural killer cells in the spleen of rats after treatment with Cytoxan // *Bull Exp Biol Med.*— 2006.— Vol. 141 (4).— P. 394–396.
44. Novikova N. S., Kazakova T. B., Rogers V., Korneva E. A. Expression of the c-fos gene in spinal cord and brain cells in rats subjected to stress in conditions of exposure to various types of halothane anesthesia. *Neurosci Behav Physiol.*— 2004.— Vol. 34.— P. 407–412.
45. Gritskevich N. L., Gushchin G. V., Katsnel'son Ia. S., Korneva E. A., Lebedev V. P., Lobzhanidze N. Sh., Fomicheva E. E. Nonspecific resistance of the body to transcranial electric stimulation in the analgesia regimen // *Patol Fiziol Eksp Ter.*— 1991.— Vol. 6.— P. 10–12.

46. Cupić D., Krzalić L. j., Nastić-Mirić D., Korneva E. A., Shkhinek E. Endocrine and metabolic mechanisms of the pathological syndrome due to antigens of homologous glial tissue in monkeys // *Biull Eksp Biol Med.*— 1984.— Vol. 98.— P. 666–668.
47. Nosov M. A., Fluegel A., Korneva E. A. In search of the guilty: analysis of encephalitogenic T-cell migration pathways on preclinical phase of EAE after their intravenous or intraperitoneal injection // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2009.— Vol. 95 (12).— P. 1416–1426.
48. Rybakina E. G., Shanin S. N., Fomicheva E. E., Korneva E. A. Cellular and molecular mechanisms of interaction between the neuroendocrine and immune systems under chronic fatigue syndrome in experiment // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2009.— Vol. 95.— P. 1324–1335.
49. Kazakova T. B., Novikova N. S., Korneva E. A. Structure and functions of the brain orexin-containing neurons // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2006.— Vol. 92 (6).— P. 677–691.
50. Abramova T. V., Novikova N. S., Perecrest S. V., Rogers V. J., Korneva E. A. Responses of hypothalamic orexin-containing neurons to cyclophosphamide, EHF-irradiation of the skin, and their combination in rats // *Pathophysiology.*— 2007.— Vol. 14.— P. 79–85.
51. Novikova N. S., Perecrest S. V., Shainidze K. Z., Korneva E. A. Response of hypothalamic orexin-containing neurons to stimuli of antigen and non-antigen nature // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2009.— Vol. 95.— P. 1309–1323.
52. Perecrest S. V., Shainidze K. Z., Loskutov Iu. V., Abramova T. V., Novikova N. S., Korneva E. A. Immunoreactivity of hypothalamic orexin neurons and expression level of preproorexin gene in them after lipopolysaccharide injection // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2011.— Vol. 97.— P. 573–579.
53. Abramova T. V., Perecrest S. V., Shainidze K. Z., Novikova N. S., Korneva E. A. Receptors for orexins: structure, localisation and activation mechanisms // *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.*— 2011.— Vol. 97.— P. 995–1007.
54. Korneva E. A., Kokryakov V. N. Defensins: Antimicrobial peptides with a broad spectrum of biological activity // *The Immune-Neuroendocrine Circuitry: History and Progress.* Berczi I, Szentivanyi A. Serial eds. // *Neuroimmune Biol.*— 2002.— Vol. 3.
55. Phelps C., Korneva E., eds. Berczi I., Szentivanyi A. Serial Eds. Cytokines and the Brain // *Neuroimmune Biol.*— 2008.— Vol. 6.
56. Korneva E. A. Concluding Remarks // *Cytokines and the brain.* Phelps C, Korneva E. Editors, Berczi I, Szentivanyi A. Serial Eds. // *Neuroimmune Biology.*— 2008.— Vol. 6.— P. 567–570.
57. Rybakina E. G., Korneva E. A. Interleukin-1-beta Signal Transduction via the Sphingomyelin Pathway in Brain Cells // *Cytokines and the brain.* Phelps C., Korneva EA, Editors, Berczi I, Szentivanyi A. Serial Eds. // *Neuroimmune Biol.*— 2008.— Vol. 6.— P. 79–107.
58. Korneva E. A., Kazakova T. B. Interleukin-2 Gene Expression in CNS Cells after Stress and Antigen Application // *Cytokines and the brain.* Phelps C., Korneva E. Editors, Berczi I, Szentivanyi A. Serial Eds. // *Neuroimmune Biol.*— 2008.— Vol. 6.— P. 353–372.
59. Korneva E. A., Novikova N. S. Brain Responses to Antigenic Challenges. In the brain and host defense. BG. Arnason Ed., Berczi I and Szentivanyi A. Series Ed // *NeuroImmune Biol.*— 2010.— Vol. 9.— P. 113–121.
60. Korneva E. A. On the History of Immunophysiology: First Steps and Main Trends. In *New Insights to Neurimmune Biology.* Berczi I. ed.— Amsterdam: Elsevier, 2010.— P. 33–50.
61. Perecrest S. V., Shainidze K. Z., Novikova N. S., Kazakova T. B., Korneva E. A. Hypothalamic neuron activation under stress and during antigen application // *Adv. Neuroimm. Biol.*— 2012.— Vol. 3.— P. 243–253.
62. Rybakina E. G., Shanin S. N., Korneva E. A. Cellular, Molecular and Signaling Mechanisms in Neuro-Immune Interactions Under Stress // *Adv. Neuroimm. Biol.*— 2012.— Vol. 3.— P. 235–241.
63. Novikova N. S., Korneva E. A. Orexin – Containing Neurons and the Immune System. In the brain and host defense. BG. Arnason Ed., Berczi I. and Szentivanyi A. Series Ed. // *NeuroImmune Biol.*— 2010.— Vol. 9.— P. 91–100.
64. Shainidze K. Z., Perecrest S. V., Novikova N. S., Kazakova T. B., Korneva E. A. Stimulation of orexinergic system in the CNS and in immune organs by various forms of stress // *Adv. Neuroimm. Biol.*— 2012.— Vol. 3.— P. 255–264.
65. Perecrest S. V., Shteintcaig A. D., Kawakami Naoto, Wekerle Hartmut, Korneva E. A. Morpho-functional characteristics of hypothalamic orexin neurons during experimental autoimmune encephalomyelitis // *Advances of Neuroim. Biol.* (in press).
66. Rybakina E. G., Shanin S. N., Fomicheva E. E., Dmitrienko E. V., Filatenkova T. A., Korneva E. A. Correction of Stress-induced Dysfunctions of the Immune and Neuroendocrine Systems by Peptide and Nucleotide Preparations // *Adv. Neuroim. Biol.* 2012; 3 — P. 353–360.
67. Korneva E. A., Novikova N. C., Perecrest S. V., Shainadze K. Z., Mazina V. A. Neurimmune-Physiology — Contemporary and historical considerations // *Russian J. of Immunology.*— 2014.— Vol. 8.— P. 446–449.

Поступила в редакцию: 15.12.2014 г.  
Контакт: Иштван Берци, [Berczi@ms.umanitoba.ca](mailto:Berczi@ms.umanitoba.ca)

УДК 159.9.6:616-009.8

## ПРИМЕНЕНИЕ ВИДЕОКОМПЬЮТЕРНОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ ПО КОЖНО-ГАЛЬВАНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ БОРЬБЫ СО СТРЕССОМ И УЛУЧШЕНИЯ ПСИХОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup>О. Н. Вовк, <sup>2</sup>Ю. В. Балабанов, <sup>2</sup>Ю. Ю. Вакуленко, <sup>1</sup>В. М. Клименко

<sup>1</sup>НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, физиологический отдел им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ООО НПЦ «Ин Витро», Санкт-Петербург, Россия

## THE APPLICATION OF VIDEOCOMPUTER FEEDBACK BY GSR TO FIGHT STRESS AND IMPROVE PSYCHOPHYSIOLOGICAL INDICATORS OF HUMAN HEALTH

<sup>1</sup>O. N. Vovk, <sup>2</sup>Y. V. Balabanov, <sup>2</sup>Y. Y. Vakulenko, <sup>1</sup>V. M. Klimenko

<sup>1</sup>Institute for Experimental Medicine, NWB RAMS, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>SPC Ltd. «In Vitro», St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Работа посвящена антистрессовой терапии с применением мотивационного аутотренинга с видеокomпьютерной внешней обратной связью. Исследование проводилось на 32 добровольцах-испытуемых в возрасте от 17 до 45 лет с различными психоэмоциональными, соматическими расстройствами и никотиновой зависимостью. Полученные данные показали, что мотивационный аутотренинг с видеокomпьютерной внешней обратной связью по кожно-гальванической реакции (КГР) влияет на основные физиологические механизмы стресса, снижает тонус симпатической вегетативной нервной системы, повышает устойчивость центральной нервной системы к воздействию стресса, восстанавливает адаптивные механизмы саморегуляции, оказывает благоприятное воздействие на организм и здоровье человека.

**Ключевые слова:** видеокomпьютерная внешняя обратная связь, нейробиоуправление с внешней обратной связью, адаптивная саморегуляция с внешней обратной связью по КГР, антистрессовая терапия, кожно-гальваническая реакция, здоровье.

This work is devoted to anti-stress therapy in applying the motivational videocomputer meditating with external feedback. The study was conducted on 32 volunteers; subjects aged 17 to 45 years with a variety of psycho-somatic disorders and nicotine dependence. The findings showed that motivational videocomputer external auditory training with feedback galvanic skin response (GSR) affects the basic physiological mechanisms of stress, lowers the tone of the sympathetic autonomic nervous system, increases the stability of the central nervous system to the effects of stress, restores the adaptive mechanisms of self-regulation, has a beneficial effect on the body and the health of humans.

**Key words:** videocomputer external feedback neurobiofeedback with external feedback, adaptive self-regulation with external feedback by RAG, anti-stress therapy, galvanic skin response, health.

**Введение.** В настоящее время в нашей стране и за рубежом среди населения широкое распространение получили психосоматические, невротические, связанные со стрессом и тревожно-фобические расстройства, которые часто называют «болезнями цивилизации». Эти нарушения относятся в МКБ-10 к рубрикам F40–F48 [1]. Данные нарушения зачастую сопровождаются выраженными вегетативными дисфункциями, эмоциональной лабильностью, нарушениями сна и поведения, отрицательно влияют на работоспособность, адаптацию и социализацию человека, его здоровье в целом [2–4].

Известно, что проблемы здоровья (полного физического, душевного и социального благополучия) и здорового образа жизни тесно связаны с моделями поведения индивидуума в обществе. Также доказано, что состояние здоровья человека определяется процессами оптимальной саморегуляции функциональных систем организма, адекватно перестраивающихся под влиянием факторов внешней и внутренней среды. Нарушение процессов саморегуляции и адаптации в организме при воздействии стрессов, болезней, негативных внутриличностных и межличностных отношений приводит к развитию различ-

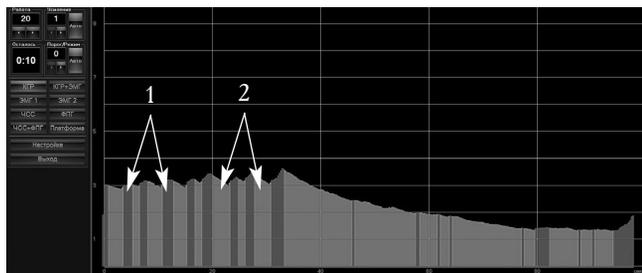
ных психосоматических дисфункций, вплоть до тяжелых болезней и устойчивых патологических состояний [4, 5]. Для повышения эффективности лечения и минимизации профессиональных ошибок при коррекции нарушенных функций и функциональных состояний (особенно устойчивых патологических состояний) важную роль играет контроль объективных психофизиологических показателей при восстановлении адаптивных механизмов саморегуляции человека.

Последние десятилетия во всех развитых странах в медико-психолого-педагогических сферах стал широко применяться метод биологической обратной связи (БОС), называемый в научно-практической литературе нейробиоуправлением, функциональным биоуправлением, адаптивной саморегуляцией с внешней обратной связью [5, 7–10]. Его целесообразность и высокая эффективность доказана во многих областях медицины, психологии, спорта и науки [11–13]. По результатам использования внешней обратной связи у нас в стране и за рубежом написаны сотни тысяч работ, защищено множество диссертаций. Метод позволяет специалисту в короткие сроки объективно и правильно обучить человека (как ребенка, так и взрослого) навыкам психофизиологической саморегуляции, выработать новое функциональное состояние, способствующее улучшению и нормализации показателей здоровья, а также поддержанию здорового образа жизни.

**Материалы и методы исследования.** Настоящее исследование проводилось на 32 добровольцах в возрасте от 17 до 45 лет. У всех отмечались те или иные психоэмоциональные, соматические расстройства и вегетативные дисфункции, обусловленные стрессом. Кроме того, у ряда испытуемых была выявлена никотиновая зависимость (стаж курения более 3 лет). При коррекции функционального состояния исследуемых и выработке стрессоустойчивости был использован метод мотивационного аутотренинга с видеокомпьютерной внешней обратной связью по кожно-гальванической реакции (КГР). Для его реализации использовался аппаратный комплекс «Амблиокор™-01Р» (производство ООО НПЦ «ИН ВИТРО», СПб), имеющий все необходимые документы, которые позволяют применять его в науке, педагогике, спорте и практической медицине. Коррекционный курс адаптивной саморегуляции с применением мотивационного аутотренинга с видеокомпьютерной внешней обратной связью состоял из 10–20 ежедневных или через день занятий по 20 до 30 минут каждое, в зависимости от функционального состояния тренируемого человека.

Каждое занятие включало в себя предварительную беседу с пациентом, сеанс адаптивной саморегуляции с внешней обратной связью, обсуждение результатов тренинга и рекомендации. Во время сеанса пациент сидел в удобном кресле перед экраном демонстрационного монитора на расстоянии 1,5–2 метра от комплекса. Усилитель сигналов при помощи эластичного ремня фиксировался на поясе пациента. Датчик для регистрации КГР прикреплялся на дистальную фалангу указательного или среднего пальца руки. Сигналом внешней обратной связи служил фрагмент видеофильма, демонстрируемый на экране монитора для пациента. Выбор фрагмента видеофильма осуществлялся из базы программного обеспечения. Это мог быть художественный, мультипликационный, документальный фильм. Обычно фильм выбирал сам пациент под контролем специалиста. Однако в ряде случаев (повышенная сенситивность, эмоциональная лабильность, наличие депрессивной симптоматики, хроническая усталость), чтобы не провоцировать на занятиях (особенно первых) у пациента излишнее волнение и напряжение, тематику фильма предлагал специалист. Вначале испытуемым рекомендовались позитивные и «легкие» фрагменты видеофильмов и мультфильмов. По мере снижения показателей КГР и уменьшения вегетативной лабильности (чаще во второй половине коррекционного курса) сюжеты предлагаемых видеофильмов становились более эмоциональными, насыщенными и сложными. В процессе тренинга в момент увеличения уровня КГР, изображение на экране монитора пациента исчезало, в момент понижения — появлялось снова. Продолжение просмотра фильма служило положительным подкреплением, а отсутствие — отрицательным. Главной задачей для испытуемого было поддержание того функционального состояния, которое позволяло бы ему смотреть фильм, путем снятия психоэмоционального и мышечного напряжения и снижения уровня КГР. Чем дольше в процессе тренинга демонстрировался видеофильм, тем выше был показатель успешности за сеанс. По ходу сеанса специалист на своем рабочем мониторе наблюдал за цифровыми и графическими показателями амплитуды КГР и периодами успешности (рис. 1).

После сеанса все результаты тренинга выводились на экран специалиста. Это позволяло проанализировать и сохранить их в индивидуальной карточке клиента. Программное обеспечение также предоставляло возможность специалисту и пациенту анализировать динамику физиологических показателей и успешности тренингов не только в течение одного занятия, но и в течение всего курса.



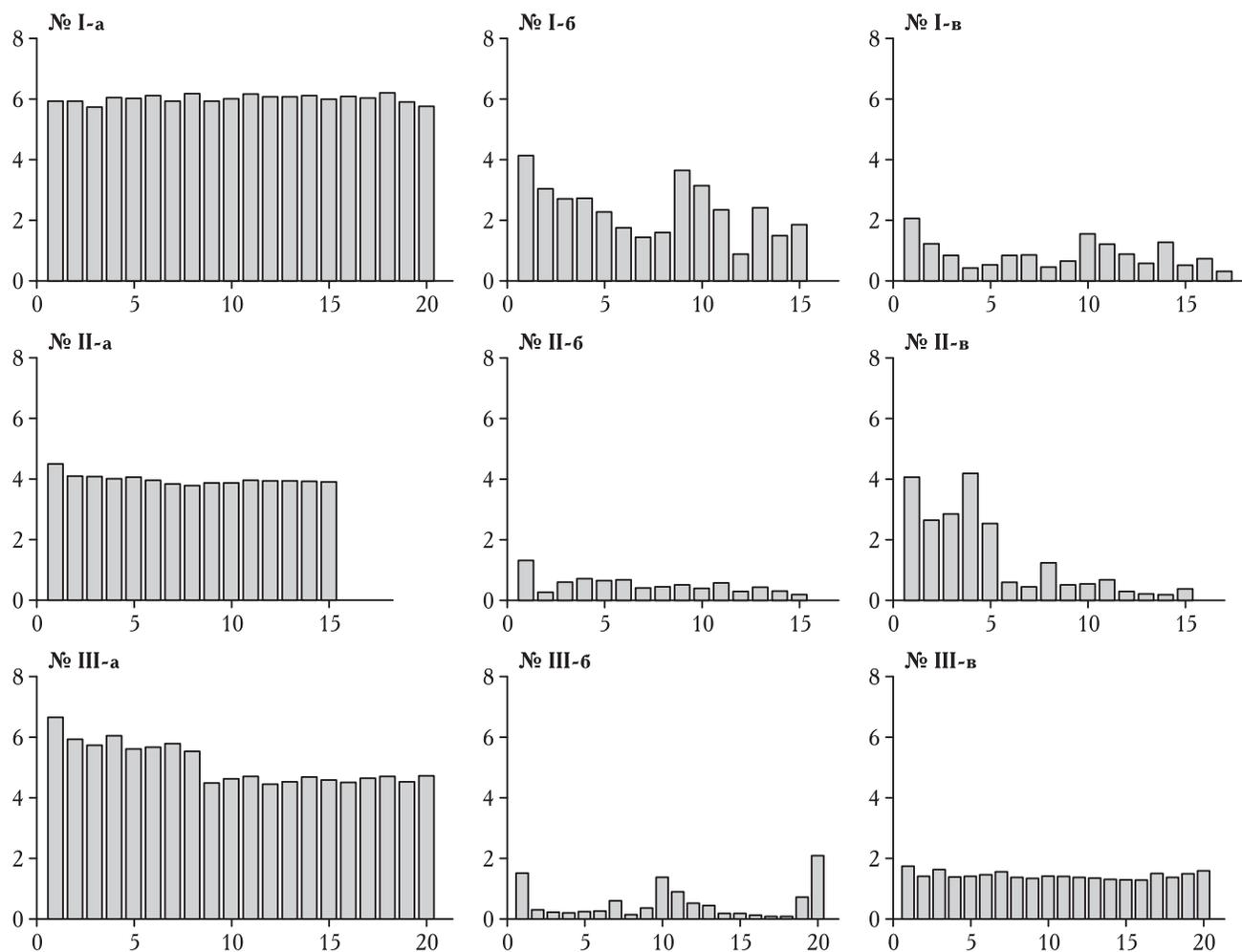
**Рис. 1.** В процессе мотивационного аутотренинга с применением видеокomпьютерной внешней обратной связи по КГР результаты тренинга отражаются на экране монитора специалиста, где периоды повышения КГР (просмотр фильма невозможен) — темные полосы (1), снижение КГР (идет демонстрация фильма) — светлые (2).

Для математико-статистической обработки результатов использовались описательные статистики, *t*-критерий для зависимых и независимых выборок.

**Результаты исследования.** Исследования показали, что после 5–7 занятий у испытуемых начал формироваться устойчивый навык по снижению

величины КГР в течение тренинга с увеличением времени просмотра видеofilма. Положительная динамика наблюдалась не только в течение одного сеанса, но и курса в целом (рис. 2, 3), что указывало на уменьшение лабильности вегетативной нервной системы, повышение адаптивных свойств, увеличение стрессоустойчивости обучаемого человека.

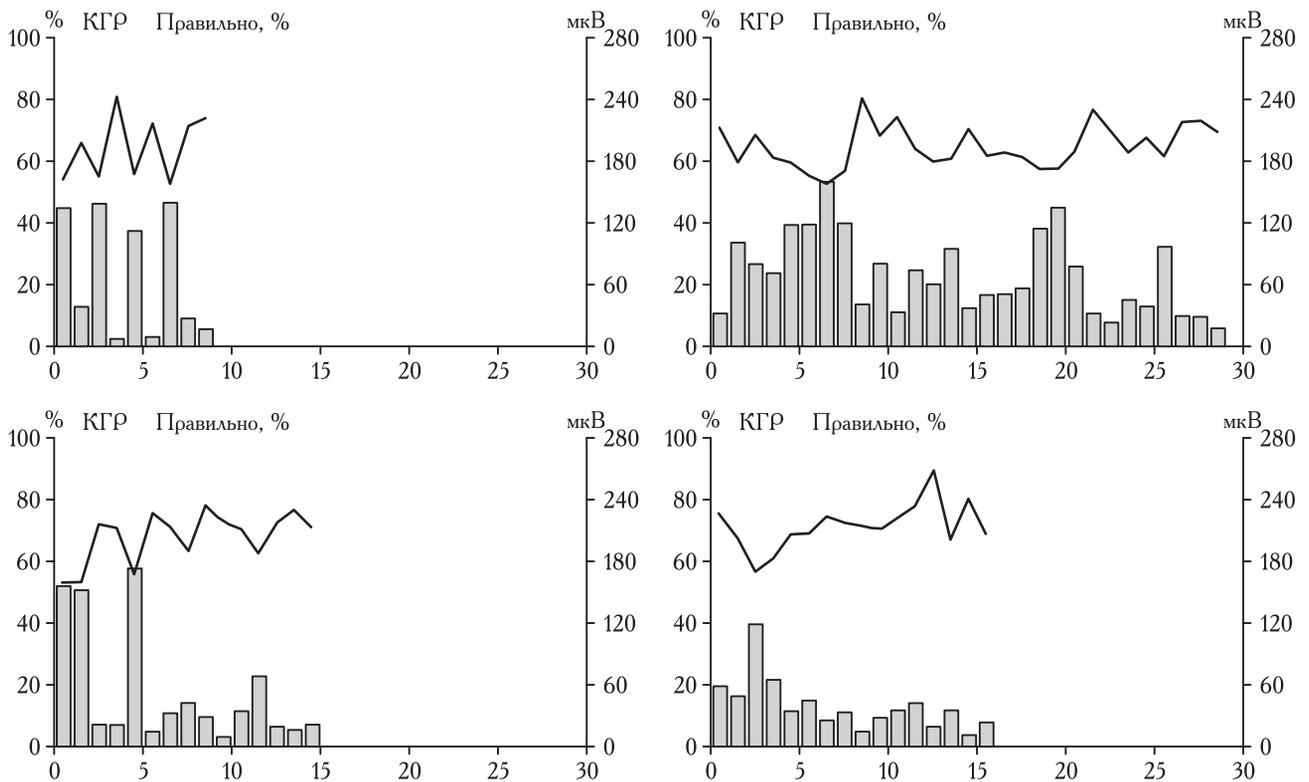
В целом по группе показатель успешности (в %) просмотра видеofilма в течение всего сеанса к концу курса достоверно ( $p < 0,01$ ) повысился (рис. 4) на фоне снижения уровня КГР ( $p < 0,001$ ). Целесообразно подчеркнуть, что чем ниже был уровень КГР за сеанс, тем комфортнее чувствовал себя пациент, тем устойчивее было его психоэмоциональное и вегетативное состояние. В процессе курса успешность просмотра видеofilма на отдельных сеансах могла внезапно ухудшиться, а уровень КГР увеличиться (см. рис. 2, в; рис. 3). По ходу беседы выяснялось, что испытуемый в этот день чувствовал себя



**Рис. 2.** Динамика КГР (в усл. ед.) в течение одного сеанса и курса мотивационного аутотренинга с видеокomпьютерной внешней обратной связью: 1) испытуемого № 1 (возраст 21 год) — на 1-м (а), 7-м (б) и 10-м (в) сеансах; 2) испытуемого № 2 (возраст 34 года) — на 1-м (а), 9-м (б) и 13 (в) сеансах; 3) испытуемой № 3 (возраст 37 лет) на 1-м (а), 7-м (б) и при повторном стрессе, аналогичного первому после перерыва в два месяца после базового курса из 15 занятий (в). По оси абсцисс — минуты сеанса; по оси ординат — показатель КГР в условных единицах.

хуже, чем в предыдущие дни, что было обусловлено переутомлением, плохим сном, неприятностями на работе или дома, началом болезни (ОРВИ).

функциональное состояние, позволяющие контролировать и подавлять негативные проявления стресса и избыточное психоэмоциональное напряжение (см.

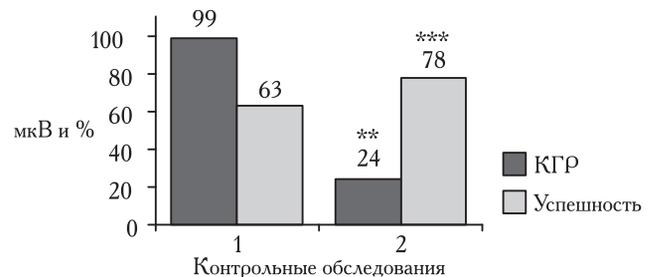


**Рис. 3.** Примеры индивидуальной динамики КГР (столбики) и успешности просмотра видеофильма (верхний график) различных испытуемых в течение курса мотивационного аутотренинга с видеокомпьютерной внешней обратной связью. по оси абсцисс — номер сеанса; по оси ординат: слева — успешность просмотра видеофильма (в %), справа — величина амплитуды КГР (в мкВ).

Исследования также показали, что чем больше было проведено сеансов и чем устойчивее был вырабатываемый навык саморегуляции, тем быстрее в процессе тренинга пациент справлялся с избыточным психоэмоциональным напряжением. Обычно после 7–10 сеансов-тренингов обучаемый реагировал на просмотр сложного, эмоционально насыщенного видеоматериала более низкими психоэмоциональными, вегетативными и энергетическими затратами, чем на первых сеансах курса. У ряда пациентов, прошедших курс мотивационного аутотренинга с видеокомпьютерной внешней обратной связью, после длительных перерывов в несколько месяцев, при влиянии повторных стрессовых и психоэмоциональных нагрузок, аналогичных первичным, показатели КГР в течение тренинга были в несколько раз ниже, чем на первых сеансах (см. рис. 2, в). При этом испытуемые отмечали у себя более спокойное реагирование на данные нагрузки, что указывало на повышение устойчивости их функционального состояния к воздействию стресса.

Анализ результатов свидетельствовал, что после 10 сеансов практически у всех пациентов были выработаны новые навыки саморегуляции и новое

рис. 1). Наиболее устойчивые состояния по борьбе со стрессом были выработаны у лиц посетивших 15–20 сеансов-тренингов. Положительная динамика в регистрируемых показателях отмечалась как



**Рис. 4.** Динамика показателей КГР в мкВ и успешности просмотра видеофильма в % в течение курса видеокомпьютерного мотивационного аутотренинга по группе испытуемых на первом (1) и заключительном контрольном обследовании (2). \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

в течение одного занятия (см. рис. 2), так и от занятия к занятию (см. рис. 2, 3).

Изучение результатов клинических и психологических составляющих выявило снижение уровня показателей тревожности, невротичности, эмоцио-

нальности, вегетативных дисфункций. Испытуемые отмечали, что стали более спокойными, лучше чувствовали свое состояние, контролировали и устраняли избыточное напряжение как в условиях тренинга, так и в окружающей их социальной среде. Среди курящих выявлена тенденция по уменьшению количества выкуриваемых за день сигарет.

**Заключение.** Проведенное исследование показало, что мотивационный аутотренинг с видеокомпьютерной внешней обратной связью по КГР влияет на основные физиологические механизмы стресса, снижает симпатический тонус вегетативной нервной системы, повышает устойчивость центральной нерв-

ной системы к воздействию стресса, оказывает благоприятное воздействие на организм и здоровье человека. Нормализация психофизиологического состояния и выработка новых устойчивых динамических стереотипов поведения достигаются активацией, восстановлением и тренировкой эндогенных механизмов саморегуляции. Достижение еще большей эффективности личностной антистрессовой терапии возможно за счет комплексного использования мотивационного аутотренинга с видеокомпьютерной внешней обратной связью по КГР и целенаправленной психологической и психотерапевтической коррекции, применения массажа, фармако- и физиотерапии.

### Литература

1. МКБ-10. Классификация психических и поведенческих расстройств: Исследовательские диагностические критерии. — Женева: ВОЗ, 1998. — 208 с.
2. Вегетативные расстройства: клиника, лечение, диагностика / Под ред. А. М. Вейна. — М.: Мед. информ. агентство, 2000. — 752 с.
3. Парценьяк С. А. Стресс. Вегетозы. Психосоматика. — СПб., 2002. — 384 с.
4. Фомин Н. А. Адаптация: общебиологические и психофизиологические основы. — М.: Теория и практика физической культуры, 2003. — 383 с.
5. Черниговская Н. В. Адаптивное биоуправление в неврологии. — Л.: Наука, 1978. — 134 с.
6. Апчел В. Я., Цыган В. Н. Стресс и стрессоустойчивость человека. — СПб.: ВМА, 1999. — 86 с.
7. Адаптивная саморегуляция функций / Под ред. Н. Н. Василевского. — М.: Медицина, 1977. — 323 с.
8. Богданов О. В. Физиологические основы процессов восстановления функций мозга и реабилитации организма: Теоретические предпосылки к функциональному биоуправлению с обратными связями. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2000. — 60 с.
9. Богданов О. В. Обратная связь и функциональное биоуправление в двигательном обучении: Теоретические и прикладные аспекты. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2000. — 74 с.
10. Черниговская Н. В., Мовисянц С. А., Тимофеева А. Н. Клиническое значение адаптивного биоуправления. — Л.: Медицина, 1982. — 127 с.
11. Биоуправление-2: Теория и практика / Под ред. М. Б. Штарка. — Новосибирск: АО «Офсет», 1992. — 159 с.
12. Биоуправление-3: Теория и практика / Под ред. М. Б. Штарка. — Новосибирск: ЦЭРИС, 1998. — 300 с.
13. Биоуправление-4: Теория и практика / Под ред. М. Б. Штарка и М. Шварца. — Новосибирск: ЦЭРИС, 2002. — 340 с.

Поступила в редакцию: 19.11.2014 г.

Контакт: Вовк Оксана Николаевна, [vovk-oksana@yandex.ru](mailto:vovk-oksana@yandex.ru)

### Сведения об авторах:

*Вовк Оксана Николаевна* — к. м. н., с. н. с. Отдела физиологии им. И. П. Павлова ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, ГУ НИИЭМ СЗО РАМН, Отдел физиологии им. И. П. Павлова, e-mail: [vovk-oksana@yandex.ru](mailto:vovk-oksana@yandex.ru)

*Балабанов Юрий Владимирович* — к. б. н., генеральный директор ООО НПЦ «ИН ВИТРО». Санкт-Петербург, ООО НПЦ «ИН ВИТРО». Тел./факс +7 (812) 598-37-14; e-mail: [balabanov@neuromedspb.ru](mailto:balabanov@neuromedspb.ru)

*Вакуленко Юлия Юрьевна* — научный сотрудник ООО НПЦ «ИН ВИТРО». Санкт-Петербург, ООО НПЦ «ИН ВИТРО», тел./факс: +7 (812) 373-12-95, +7 (921) 980-92-80; e-mail: [vakulenko@amblyocor.ru](mailto:vakulenko@amblyocor.ru)

*Клименко Виктор Матвеевич* — профессор, д. м. н., руководитель Отдела физиологии имени И. П. Павлова НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН. Санкт-Петербург, ГУ НИИЭМ СЗО РАМН, Отдел физиологии им. И. П. Павлова. рабочий телефон: 7 (812) 234-99-37. Факс: 7 (812) 234-93-26; e-mail: [klimenko\\_victor@mail.ru](mailto:klimenko_victor@mail.ru)

УДК 614.2

## МОЙ ДРУГ Е. А. КОРНЕВА И РОССИЯ. ВПЕЧАТЛЕНИЯ И ВОСПОМИНАНИЯ

*Тошихико Катафучи*

Отдел интегративной физиологии Высшей школы медицинских наук, Университет Кюсю, Фукуока 812-8582, Япония

## MY FRIEND DR. H. KORNEVA AND RUSSIA

*Toshihiko Katafuchi*

Department of Integrative Physiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

© Toshihiko Katafuchi, 2014 г.

Я искренне поздравляю профессора Корневу с 85-летием. Для меня большая честь написать о ней в этом журнале. Уже прошло 20 лет с момента моего первого разговора в Японии с Е. А. Корневой, которая является одним из пионеров в исследованиях проблемы нейроиммуномодуляции в мире. Во время Международного конгресса по патофизиологии, состоявшегося в 1998 году в Лахти (Финляндия), меня пригласили посетить Санкт-Петербург. Благодаря этому приглашению, я впервые посетил Санкт-Петербург, приняв участие в работе международной конференции на тему «Механизмы функционирования висцеральных систем», посвященной 150-летию академика Ивана Павлова. С тех пор я много раз посетил Санкт-Петербург, а также побывал в других городах России, таких как Москва, Волгоград и Екатеринбург. В этой короткой статье я хотел бы поблагодарить Е. А. Корневу за искреннюю заботу и рассказать о встречах с ней в России, с которыми связаны прекрасные воспоминания.

**Ключевые слова:** НК-клетки, синдром хронической усталости, плазмалогены.

I sincerely congratulate Dr. Korneva's 85<sup>th</sup> anniversary. It was my great honor to be invited to contribute to this journal. It was just 20 years ago when I made a conversation with Dr. Korneva in Japan in 1994, who was one of the pioneers in neuroimmunomodulation study in the world. Then I was invited to visit St. Petersburg in 1998 during International Congress of Pathophysiology held in Lahti, Finland. According to her invitation I visited St. Petersburg for the first time to attend International Conference on «Mechanisms of Functioning of Visceral Systems» dedicated to academician Ivan Pavlov's 150-anniversary. Since that time I visited St. Petersburg many times as well as other cities in Russia such as Moscow, Volgograd and Ekaterinburg. In this short chapter to appreciate Dr. Korneva's sincere kindness, I would like to describe wonderful memories with Dr. Korneva in Russia.

**Key words:** natural killer cell, chronic fatigue syndrome, plasmalogens.

**First meeting with Dr. Korneva in Japan.** In 1994, the 2<sup>nd</sup> International Congress of Pathophysiology was held in Kyoto, Japan, from Nov. 19 to 24, of which president was Dr. Y. Oomura, an old friend of Dr. H. Korneva inviting her to this congress. Dr. Oomura was my first professor of physiology in Kyushu University. Just after the congress in Kyoto I moved to Nagoya to attend the 4<sup>th</sup> Naito Conference on Neuro-Immuno-Endocrine Networks from Nov. 25 to 28. This international conference was organized by Dr. T. Hori, who was my second professor of physiology in Kyushu University. Since Dr. Korneva was also invited by Dr. Hori to attend the conference, I was asked by Dr. Hori to meet Dr. Korneva at Nagoya station. That was the first time to meet with Dr. Korneva. She was a so gentle woman and I was glad to help her to buy something for her family.

Of course there was a chance to meet before the congress. In 1990 and 1993, the International Congresses of International Society for Neuroimmunomodulation were held in Florence and Paestum, respectively, Italy, and Dr. Korneva must be there because she was one of the founders of the society. Although I also attended the congress, I could not meet her in those years.

**Invitation to visit St. Petersburg from Dr. Korneva.** In 1998 the 3<sup>rd</sup> International Congress of Pathophysiology was held at Lahti, Finland. During the congress I met Dr. Korneva and Dr. E. Rybakina with Dr. Y. Oomura. Then Dr. Korneva invited me to visit St. Petersburg to attend the International Conference «Mechanisms of Functioning of Visceral Systems» (dedicated to Academician Ivan Pavlov's 150-anniversary) held in 1999. Since I was glad to be invited to visit world-

wide famous city, St. Petersburg for the first time, I immediately agreed with her invitation.

It was an interesting trip because I took train from Helsinki, Finland, to St. Petersburg in 1999. When I arrived at the Finland station in St. Petersburg, Dr. Rybakina and her husband kindly came to the station to pick me up at late evening. It was also an interesting short drive from the station to their home because the town was lighted-up and the whole city seemed to be like a museum. They kindly gave a room in their home and I spent several days. During the conference the postgraduate student, Ms. I. Pivanovich translated the papers presented by the Russian scientists into English because most of the presentation was done in Russian language. In this conference in 1999, I presented a paper about hypothalamic modulation of NK cell activity [4–6]. She also took me to the famous places in St. Petersburg such as Nevsky Prospect, Hermitage Museum, St. Isaac's Cathedral, Church of the Savior on Blood, Peter and Paul Fortress and the Peterhof.

In 2000, I invited Dr. Rybakina to my laboratory in Kyushu University, Fukuoka, Japan to do some collaboration studies. I believe that she enjoyed life in Japan although it was only one month. Thereafter from 2001 until present I was invited by Dr. Korneva to visit Russia totally 9 times.

**Congress on the ship.** The trip to Russia in 2001 was the longest and most exciting one. First I visited St. Petersburg to meet Dr. Korneva and Dr. Rybakina then we together took a train leaving for Volgograd. We started at St. Petersburg in the late night and spent one more night in the train then we arrived at Volgograd early in the morning. I remember that Dr. Korneva told me that I would see the center of Russia during the train journey. In fact I was so surprised by huge land and beautiful nature. In one station we bought a basket of steamed potatoes and enjoyed them.

When the train got near to Volgograd in the very early morning, I was impressed by the big stature of Mamaev Kurgan, the symbol of Volgograd, on the hill. Then we visited the dean of the Volgograd University, who used to be a student of Dr. Korneva. He showed us an old book that was hand-written by Leonardo da Vinci. At night I experienced for the first time that I ate a whole, steamed and delicious sturgeon from Volga River.

In the next morning we took a 4 storied big cruise ship, named Dmitri Furmanov, on which our symposium, «Reactions of Biological Systems to the Unfavorable Environmental Factors» in the International Conference on Environmental Pollution was held during 7 nights going up from Volgograd to Perm. My presentation in the symposium on the heat exposure-induced bacterial translocation in the aged rat brain [7] was successful and I

awarded an excellent paper prize in the symposium. However, in addition to the symposium program, I enjoyed the cruise itself that had more than 10 water locks to go up to Perm and many events inside and outside the ship.

Of course we enjoyed dinner and show time in the ship. But some cities along Volga River where we got off the ship and went sight-seeing were so impressive. For example, Saratov: a big heavy industry city which was famous for the extremely long bridge; Samara: where Yuri Alekseyevich Gagarin used to live after space, we visited Stalin's Bunker 36 meters depth under the square; and Ulyanovsk: we visited a house where Vladimir Lenin was born. Finally in Perm we visited the office of the Academician of Russian Academy of Medical Sciences, Dr. Chereshev. Then I went back to Moscow by airplane to go home to Japan. Dr. Korobov, who was working in Dr. Chereshev's lab kindly took care of me from Perm to Sheremetyevo International Airport, Moscow.

**Ekaterinburg.** Dr. Korneva invited me to attend the Congresses held in St. Petersburg in 2002 and 2003. In 2004, Dr. Korneva recommended me to participate in a big congress of Physiological Society XIX held in Ekaterinburg. I was so excited because I was asked to give a short speech in front of more than 1,000 audiences as a guest from Japan. In addition, I had an interview from the Press including TV cameras. In this Congress I presented a paper on brain mechanisms of an immunologically induced fatigue [8] and was asked many questions. Those questions encouraged me to do further experiments [9]. Recently we reported an involvement of neuroinflammation in this model of chronic fatigue syndrome [2].

In Ekaterinburg I visited the Church on Blood in Honor of All Saints Resplendent in the Russian Land, where the family of the Last Romanov's tsar, Nicholas II, were killed. Then I was so impressed when I visited the forest where they were finally found.

**From 2006 to 2013.** In 2006 I met Dr. Korneva in Moscow to attend the 8<sup>th</sup> World Congress of the International Society for Adaptive Medicine. From 2007, the International Symposium: Interaction of the nervous and immune systems in health and disease started to be organized by Russian Academy of Medical Sciences and Max-Planck Institute every 2 years in St. Petersburg. Dr. Oomura and I attended this symposium together from Japan, although he could not attend in 2013 because of his knee joint problem. Every time we visited St. Petersburg Dr. Korneva kindly invited us to her home and we had a dinner at her home. Because of her splendid hospitality, we always spent a comfortable and relax time.

In 2013 Dr. Korneva gave me a chance to give a plenary lecture in the 4<sup>th</sup> Symposium on the interaction of the nervous and immune systems in health and disease. I presented my recent work on unique glycerophospholi-

pids, plasmalogens, which had anti-inflammatory, anti-amyloidogenic and anti-apoptotic actions [1, 3].

**Conclusion.** During several occasions to visit St. Petersburg Dr. Korneva provided me chances of not only studying neuroimmunomodulation but also seeing famous places. Dr. Rybakina took me to Alexander Nevsky Monastery, where I could see tombs of worldwide famous artists such as P. I. Tchaikovsky and F. M. Dostoevsky. She also took me to Catherine Palace and Park in Pushkin city to see the Amber room. I sincerely hope that Dr. Rybakina will recover from illness and return back to her laboratory soon.

Dr. L. Churilov, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, St. Petersburg University, who

was introduced by Dr. Korneva, also took me and Dr. Oomura to Kronstadt and the oldest city, Novgorod. In addition he took us to the places where we could not have seen without his guide; D. I. Mendeleev's laboratory in the University of St. Petersburg and a special plastination specimen laboratory in Department of Anatomy, St. Petersburg Military Medical School.

I sincerely congratulate Dr. Korneva's 85<sup>th</sup> anniversary and thank her that I have made many friends in Russia. Dr. Oomura will become 90 years old next year and he is still studying physiology. I hope that Dr. Korneva will also continue her work and looking forward to meeting with her in 5<sup>th</sup> International Symposium 2015 held in St. Petersburg.

### References

1. Hossain M. S., Ifuku M., Take S. *et al.* Plasmalogens rescue neuronal cell death through an activation of AKT and ERK survival signaling // PLoS ONE — 2013.— e83508. doi:10.1371/journal.pone.0083508
2. Ifuku M., Izumi K., Ootubo S. *et al.* Induction of IL-1 $\alpha$  by activated microglia is prerequisite for immunologically induced fatigue // Eur. J. Neurosci.— 2014.— doi: 10.1111/ejn.12668
3. Ifuku M., Katafuchi T., Mawatari S. *et al.* Anti-inflammatory/anti-amyloidogenic effects of plasmalogens in lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in adult mice // J. Neuroinflammation.— 2012.— doi: 10.1186/1742-2094-9-197
4. Katafuchi T., Take S., Hori T. Roles of sympathetic nervous system in the suppression of cytotoxicity of natural killer cells in the rat // J. Physiol. (Lond.).— 1993.— Vol. 465.— P. 343–357.
5. Katafuchi T., Ichijo T., Take S., Hori T. Hypothalamic modulation of splenic natural killer cell activity in rats // J. Physiol. (Lond.).— 1993.— Vol. 471.— P. 209–221.
6. Katafuchi T., Ichijo T., Hori T. Sequential relationship between actions of CRF and PGE2 in the brain on splenic sympathetic nerve activity in rats // J. Auton. Nerv. Syst.— 1997.— Vol. 67.— P. 200–206.
7. Katafuchi T., Takaki A., Take S. *et al.* Endotoxin inhibitor blocks heat exposure-induced expression of brain cytokine mRNA in aged rats // Mol. Brain Res.— 2003.— Vol. 118.— P. 24–32.
8. Katafuchi T., Kondo T., Yasaka K. *et al.* Prolonged effects of polyriboinosinic:polyribocytidylic acid on spontaneous running wheel activity and brain interferon- $\alpha$  mRNA in rats: a model for immunologically induced fatigue // Neuroscience.— 2003.— Vol. 120.— P. 837–845.
9. Katafuchi T., Kondo T., Take S., Yoshimura M. Enhanced expression of brain interferon- $\alpha$  and serotonin transporter in immunologically induced fatigue in rats // Eur. J. Neurosci.— 2005.— Vol. 22.— P. 2817–2826.

Поступила в редакцию: 08.12.2014 г.

### Correspondence should be to:

Toshihiko Katafuchi — M.D., Ph.D. Department of Integrative Physiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan, tel: +81-92-642-6087, fax: +81-92-642-6093, e-mail: kataf@physiol.med.kyushu-u.ac.jp.

УДК 616.831-005-036.11/.12:616.152:612.015:577.15/.16

## АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС КРОВИ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ НАРУШЕНИИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

<sup>1</sup>Ю. И. Степанова, <sup>2</sup>Ю. М. Гармаза, <sup>2</sup>Е. И. Слобожанина, <sup>1</sup>В. С. Камышников, <sup>2</sup>Г. П. Зубрицкая,  
<sup>2</sup>А. Г. Кутько

<sup>1</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

## BLOOD ANTIOXIDANT STATUS AT ACUTE AND CHRONIC DISORDER OF CEREBRAL CIRCULATION

<sup>1</sup>J. I. Stepanova, <sup>2</sup>Yu. M. Garmaza, <sup>2</sup>E. I. Slobozhanina, <sup>1</sup>V. S. Kamyshnikov, <sup>2</sup>G. P. Zubritskaya, <sup>2</sup>A. G. Kutko

<sup>1</sup>Belarussian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

© Коллектив авторов, 2014 г.

**Цель исследования:** изучение антиоксидантного статуса крови, включающего общую антиоксидантную активность (ОАА) плазмы крови и ферментативную антиоксидантную систему (АОС) эритроцитов (активность глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), содержание восстановленного глутатиона) во взаимосвязи с агрегационной активностью тромбоцитов и эритроцитов у 42 пациентов с инфарктом головного мозга (ИГМ) и 20 пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП). Установлено, что антиоксидантный статус крови при церебральной ишемии на 10-е сутки лечения имеет различия в зависимости от этиопатогенеза патологического процесса. При ДЭП наблюдается восстановление активности АОС крови. При остром ИГМ выявлено выраженное нарушение баланса между антиоксидантами и прооксидантами крови, снижение ОАА крови ассоциировано с тяжестью ишемического инсульта на момент выписки пациентов из стационара. На фоне проводимой антитромботической терапии впервые выявлена тесная обратная взаимосвязь между агрегационной способностью тромбоцитов и выраженностью дефицита ОАА крови, а также между агрегацией эритроцитов и активностью СОД, каталазы эритроцитарных мембран у пациентов с ИГМ.

**Ключевые слова:** инфаркт головного мозга, дисциркуляторная энцефалопатия, антиоксидантная система крови, эритроциты, тромбоциты.

The purpose of the research — to study of the blood antioxidant status, including total antioxidant activity (TAA) of blood plasma and enzymatic antioxidant system (AOS) of red cells (activity of glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismutase and glutathione content) in conjunction with the aggregation activity of platelets and erythrocytes in 42 patients with brain infarction (BI) and 20 patients with discirculatory encephalopathy (DEP). It was found that on the 10<sup>th</sup> day of treatment of cerebral ischemia blood antioxidant status had the distinction depending on the etiopathogenesis of the pathological process. At DEP it has been revealed the recovering activity of AOS. At acute BI it was revealed pronounced imbalance between antioxidants and prooxidants of blood and TAA decreasing was associated with the severity of ischemic stroke in patients at discharge from hospital. For the first time it was identified a strong inverse relationship between platelet aggregation and the severity of blood TAA deficit, as well as between erythrocytes aggregation and the activity of SOD, catalase of erythrocyte membranes in patients with BI against the background of ongoing antithrombotic therapy.

**Key words:** cerebral infarction, encephalopathy, antioxidant system of blood, red cells, platelets.

**Введение.** Цереброваскулярные заболевания ишемического генеза остаются лидирующей причиной смертности и инвалидизации населения Европы и Северной Америки, несмотря на совместные усилия научных институтов, учреждений здравоохранения, общественных организаций по снижению заболеваемости [1]. Одним из ключевых факторов развития инфаркта головного мозга (ИГМ) на фоне

острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) является оксидативный стресс, обусловленный недостаточной эффективностью антиоксидантной системы (АОС) при избыточном образовании активных форм кислорода (АФК), молекулярной мишенью действия которых являются липиды, белки и ДНК нейронов, что ведет к потере целостности клеточных мембран, нарушению прони-

цаемости гематоэнцефалического барьера, прекращению энергетического метаболизма в митохондриях и в конечном итоге прерывает цикл жизнеобеспечения клеток с формированием очага некроза [2].

Развитию хронического нарушения мозгового кровообращения (ХНМК) способствует снижение ряда показателей антиоксидантной системы у лиц старших возрастных групп, а также накопление АФК в структурах мозга, что приводит к избытку продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), субстратом которого являются полиненасыщенные жирные кислоты липидов биомембран [3]. В основе как острого, так и хронического ишемического повреждения нейронов находится сложный каскад взаимодействия эндотелия сосудистой стенки, нейронов и микроглии, гемостатических факторов, а также клеток крови, прежде всего, тромбоцитов и эритроцитов [4, 5].

Известно, что структурно-функциональная модификация мембран эритроцитов, осуществляющих морфофункциональные взаимодействия с клетками на микроциркуляторном уровне, отражает происходящие в организме патофизиологические изменения [6]. Состояние кислородтранспортной функции крови зависит от энергетического и антиоксидантного статуса эритроцитов, которые обладают мощной системой антиоксидантной защиты, но при высоком уровне содержания свободных радикалов или недостаточной эффективности первичной антиоксидантной защиты окислительное повреждение мембранных компонентов эритроцитов приводит к нарушению их газотранспортной функции и гемолизу клеток.

В настоящее время недостаточно изученным аспектом патогенеза церебральной ишемии является энзимная составляющая АОС организма, и в частности ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов (каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП)), активность которых во многом обуславливает эффективность системы транспорта кислорода, поскольку они оказывают существенное влияние на сродство гемоглобина к кислороду и его оксигенацию [7]. Полифункциональность эритроцитов в условиях гипоксии и нарушения газотранспортных процессов объясняет высокую информативность изучения их функциональных особенностей при цереброваскулярной патологии. Это объясняет выбор нами эритроцитов в качестве объекта исследования, целью которого явилось изучение АОС эритроцитов, а также общей антиоксидантной активности (ОАА) плазмы крови во взаимосвязи с агрегационной активностью тромбоцитов и эритроцитов у пациентов с ОНМК и ХНМК.

**Материалы и методы исследования.** Обследованы 42 пациента с острым ИГМ (20 женщин и 22

мужчины, средний возраст  $70,6 \pm 10,3$  года) и 20 пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭП) (12 женщин и 8 мужчин, средний возраст —  $71,1 \pm 9,7$  года), поступивших в неврологическое отделение № 1 Больницы скорой медицинской помощи г. Минска. Медиана времени от развития инсульта до взятия крови составила  $22,5 \{16,0; 27,0\}$  ч. На участие в исследовании от всех пациентов или их представителей было получено информированное согласие. Контрольную группу составили 17 практически здоровых добровольцев.

Локализация очага ИГМ определена на основании нейровизуализационных данных компьютерной или магнитно-резонансной томографии. Патогенетический вариант инсульта устанавливали по критериям TOAST: атеротромботический подтип ИГМ выявлен у 23 (28,6%) лиц, кардиоэмболический — у 12 (28,6%), лакунарный — у 7 (16,6%) пациентов. Тяжесть заболевания оценивали по инсультным шкалам (Рэнкина, NIHSS) при поступлении и на момент выписки из стационара. Распределение пациентов с ДЭП по стадиям заболевания было следующим: ДЭП 1-й стадии — 2 (10%) человека, 2-й — 10 (50%) человек, 2-3-й стадии — 8 (40%) человек. Пациенты с ИГМ и ДЭП получали унифицированную терапию в соответствии с протоколами лечения.

Для оценки антиоксидантного статуса крови обследованных лиц в 1-е и на 10-е сутки госпитализации натощак до 9:00 утра проводили взятие венозной крови в пластиковые пробирки, содержащие раствор цитрата натрия (3,8 г/л) в соотношении 1 : 9. Плазма была отделена от форменных элементов путем центрифугирования крови при 800 г в течение 15 мин (центрифуга BiofugePrimoR «Heraeus», Германия). Плазму отбирали в пластиковые пробирки, (температура  $-20^{\circ}\text{C}$ ) и хранили не более 2 недель.

Интегральный показатель, отражающий способность крови тормозить развитие свободнорадикальных реакций, — ОАА плазмы крови — определяли спектрофотометрически на универсальном анализаторе Wallac 1420 (Victor2™, США) с помощью набора реагентов «Antioxidant assay kit» (Sigma, США) как в работе [8].

Активность ферментов АОС определяли в гемолизатах отмытых эритроцитов, которые отделяли от плазмы путем центрифугирования крови при 1500 г в течение 15 мин. Эритроциты трижды отмывали в 155 мМ растворе натрия хлорида. Эритроцитарные мембраны выделяли по методу [8]. Гемолиз эритроцитов проводили при разведении суспензии эритроцитов натрий-фосфатным буфером в соотношении 1 : 10 в течение 6 ч. Мембраны эритроцитов многократно отмывали от гемоглобина буфером при

18 000 г при температуре 2–4° С (центрифуга К-24, Германия).

Активность ГП определяли по методу [9]; активность СОД — по методу [10]; концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) — по методу [11]. Определение активности каталазы в эритроцитах проводили по скорости утилизации перекиси водорода методом 1988 года [12]. Фотометрические исследования осуществляли на спектрофотометре «Спекорд М-40» (Германия).

**Результаты и их обсуждение.** В табл. 1 и 2 представлена активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов и ОАА крови пациентов с ИГМ и ДЭП в 1-е и на 10-е сутки госпитализации, а также обследованных лиц контрольной группы.

Установлено, что в первые 48 ч острая церебральная ишемия приводит к значимому снижению активности каталазы, СОД, ГП и содержания ВГ по сравнению с контрольными данными ( $p=0,027$ ,  $p=0,015$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0,001$  соответственно).

Таблица 1

**Параметры антиоксидантной системы крови пациентов с ИГМ и ДЭП в 1-е сутки госпитализации и контрольной группы (Med {Q1; Q3})**

Параметры АОС крови	Контрольная группа (n=17)	ИГМ (n=42)	ДЭП (n=20)	p <sub>1-2</sub>	p <sub>1-3</sub>	p <sub>2-3</sub>
	1	2	3			
Активность каталазы, мккат/мл	3,86 {2,81; 4,65}	2,81 {2,27; 3,49}	3,05 {2,17; 4,05}	0,027	0,036	нз
Активность СОД, % ингибирования	44,6 {39,4; 50,5}	38,6 {34,7; 43,5}	41,1 {37,2; 41,9}	0,015	нз	нз
Активность ГП, мкмоль/мин	418,7 {343,5; 442,3}	103,1 {67,2; 187,5}	137,9 {85,3; 178,4}	<0,001	<0,001	нз
Содержание ВГ, мМ	0,650 {0,520; 0,725}	0,158 {0,096; 0,185}	0,483 {0,414; 0,604}	<0,001	нз	<0,001
ОАА плазмы, мМ/л	0,680 {0,422; 0,894}	0,136 {0,114; 0,151}	0,150 {0,128; 0,171}	<0,001	<0,001	0,021

Примечание. p<sub>1-2</sub> — статистически значимая разница между данными пациентов с ИГМ в 1-е сутки и контрольными данными; p<sub>1-3</sub> — статистически значимая разница между данными пациентов с ДЭП в 1-е сутки и контрольными данными; p<sub>2-3</sub> — статистически значимая разница между данными пациентов с ИГМ и ДЭП в 1-е сутки наблюдения; нз — разница статистически незначима.

Оптическую агрегатометрию тромбоцитов и эритроцитов проводили на агрегометре АР-2110 производства «СОЛАР» (Республика Беларусь) с использованием в качестве индукторов тромбоцитарной агрегации раствора аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации 0,5 мкмоль/л и коллагена — 2,0 г/л, для индукции эритроцитарной агрегации — 0,1% раствора альциана голубого. Определяли степень, скорость и время агрегации.

При проведении статистического анализа проверяли гипотезу о виде распределения количественных признаков с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные, имеющие ненормальное распределение, выражали в виде медианы и квартилей Med {Q1; Q3} и сравнивали с помощью теста Манна–Уитни, Вилкоксона. При сравнении частотных распределений в группах использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой на непрерывность. Характер связи между явлениями исследовали путем вычисления коэффициента корреляции Спирмена (r). Различия считали достоверными при  $p<0,05$ .

В 1-е сутки госпитализации у пациентов с ДЭП содержание ВГ и активность СОД сохраняется в нормальных пределах, несмотря на значимое снижение активности каталазы и ГП. При ОНМК на фоне снижения активности СОД происходит еще более значимое падение ферментативной активности каталазы, и, следовательно, недостаточная утилизация перекиси водорода, что можно расценивать как признак более глубоких метаболических нарушений и выраженного снижения адаптационных возможностей организма по сравнению с состоянием пациентов при ХНМК.

Выявлено, что в 1-е сутки исследования ишемия головного мозга как острого, так и хронического генеза приводит к значимому снижению ОАА плазмы крови по сравнению с контрольными данными ( $p<0,001$  и  $p<0,001$  соответственно). Кроме того, у пациентов с ишемическим инсультом, который проявлялся тяжелым неврологическим дефицитом ( $\geq 15$  баллов NIHSS) на момент выписки из стационара, уровень ОАА крови в 1-е сутки лечения был

ниже, чем у лиц с легкой или умеренной выраженностью неврологических симптомов: 0,129 {0,116; 0,140} и 0,145 {0,132; 0,158} мМ/л соответственно ( $p=0,014$ ).

На 10-е сутки стационарного лечения у пациентов с ИГМ сохраняется выявленный дисбаланс в системе антиоксиданты/прооксиданты — все исследуе-

объясняется тем, что в условиях избыточного накопления перекиси водорода СОД может сама образовывать гидроксид-радикалы [14], которые атакуют, в том числе, молекулы каталазы, что в итоге приводит к их фрагментации и потере активности.

При анализе состояния антиоксидантной защиты организма следует учитывать последовательность

Таблица 2

**Параметры антиоксидантной системы крови пациентов с ИГМ и ДЭП на 10-е сутки госпитализации и контрольной группы (Med {Q1; Q3})**

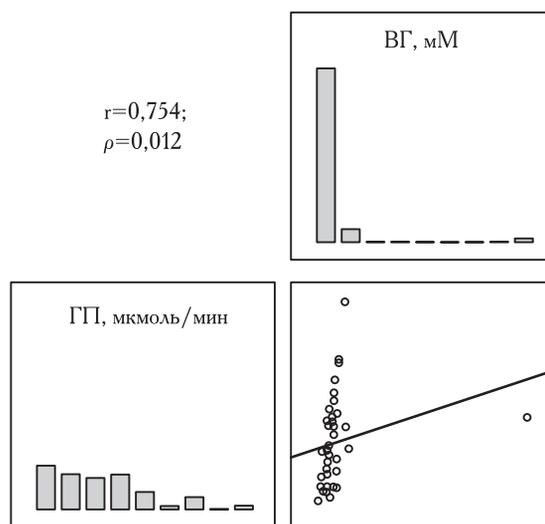
Параметры АОС крови	Контрольная группа	ИГМ	ДЭП	p1-2	p1-3	p2-3
	1	2	3			
Активность каталазы, мккат/мл	3,86 {2,81; 4,65}	2,53 {2,20; 3,50}	3,42 {2,63; 3,78}	0,041	нз	0,041
Активность СОД, % ингибирования	44,6 {39,4; 50,5}	34,6 {30,2; 36,6}	42,1 {39,5; 46,8}	0,032	нз	0,035
Активность ГП, мкмоль/мин	418,7 {343,5; 442,3}	133,1 {89,3; 209,9}	256,4 {135,6; 362,1}	<0,001	<0,001	0,016
Содержание ВГ, мМ	0,650 {0,520; 0,725}	0,256 {0,152; 0,364}	0,610 {0,554; 0,690}	<0,001	нз	<0,001
ОАА плазмы, мМ/л	0,680 {0,422; 0,894}	0,142 {0,130; 0,156}	0,233 {0,178; 0,294}	<0,001	<0,001	0,034

Примечание. p1-2 — статистически значимая разница между данными пациентов с ИГМ на 10-е сутки и контрольными данными; p1-3 — статистически значимая разница между данными пациентов с ДЭП на 10-е сутки и контрольными данными; p2-3 — статистически значимая разница между данными пациентов с ИГМ и ДЭП на 10-е сутки наблюдения; нз — разница статистически незначима.

мые параметры значимо отличаются от нормальных величин. В то же время у пациентов с ДЭП наблюдаются позитивные сдвиги состояния АОС крови под влиянием проводимой терапии. Так, нормализовалась активность каталазы, а также повысилась активность СОД и ГП по сравнению с аналогичными уровнями при инсульте. Кроме того, уровень ОАА в 1,6 раза превышал исходный ( $p=0,012$ ), а также значимо отличался от значения этого параметра при ИГМ ( $p=0,034$ ).

Результаты корреляционного анализа полученных данных представлены на рис. 1 и 2. Установлена прямая корреляционная связь между активностью ГП и содержанием ВГ:  $r=0,75$  ( $p=0,012$ ). Восстановленный глутатион является кофактором ГП и обуславливает уровень ее ферментативной активности [13], что во многом объясняет резкое снижение по сравнению с нормальной величиной концентрации ВГ, который расходуется на поддержание функционирования ГП, обеспечивающей целостность клеточных и внутриклеточных мембран в условиях окислительного стресса при ИГМ. Кроме того, обнаружена обратная зависимость между функциональной активностью СОД и каталазы эритроцитов пациентов с ИГМ:  $r=-0,65$  ( $p=0,027$ ). Это

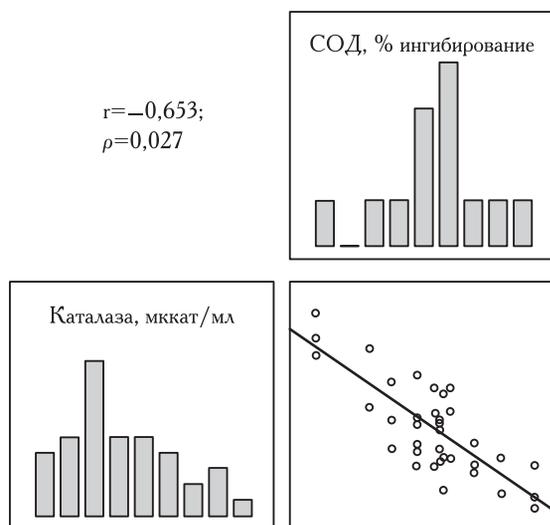
действие ее ферментов: на первом этапе СОД трансформирует супероксидный радикал до перекиси водорода, которая восстанавливается каталазой с об-



**Рис. 1.** Корреляционные зависимости между активностью глутатионпероксидазы (ГП) и содержанием восстановленного глутатиона (ВГ) эритроцитов у пациентов с ИГМ в 1-е сутки.

разованием воды и молекулярного кислорода либо ГП с образованием двух молекул воды посредством

атомарного водорода, донором которого является восстановленный глутатион.



**Рис. 2.** Корреляционные зависимости между активностью каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов у пациентов с ИГМ в 1-е сутки.

Эффективность защиты клеток от АФК определяется не только активностью отдельно взятых ферментов, но и соотношением значений их активности, поэтому нами был рассчитан индекс СОД/каталаза в 1-е и на 10-е сутки терапии. Установлено, что при госпитализации пациентов с ИГМ уровень СОД/каталаза составил 11,87 {8,38; 16,19}, а на 10-е сутки достиг 16,53 {13,60; 22,34} ( $p=0,016$ ). Повышение индекса СОД/каталаза обусловлен падением каталазной активности на фоне роста активности ГП в динамике инсульта: 103,1 {67,2; 187,5} и 133,1 {89,3; 209,9} мкмоль/мин соответственно ( $p=0,006$ ).

С одной стороны, переключение каталазного разложения перекиси водорода на глутатионпероксидазное является неблагоприятным процессом, так как его следствием может быть снижение оксигенации гемоглобина и развитие тканевой гипоксии [7]. С другой стороны, можно предположить, что при ОНМК на фоне снижения активности СОД и каталазы происходит компенсаторная активация ГП, которая не только утилизирует перекись водорода, но и осуществляет разложение гидроперекисей свободных жирных кислот посредством окисления глутатиона. Однако эта специфическая адаптивная реакция требует затрат ВГ и энергии макроэргических соединений для его регенерации, что значительно тормозит развитие компенсаторных реакций в системе антиоксидантной защиты крови пациентов с острым ИГМ.

У пациентов с ДЭП при госпитализации уровень СОД/каталаза соответствовал значению 15,26 {13,20; 19,21}, а на 10-е сутки наблюдалось его

снижение до 11,85 {9,74; 15,36} ( $p=0,032$ ), что не отличалось от величины контрольной группы 12,56 {10,44; 15,03}, и свидетельствует о восстановлении каталазной активности. Следует отметить, что рост активности каталазы, которая обладает специфической антиоксидантной защитой в отношении эндотелиальных клеток сосудов, можно рассматривать как фактор развития эндотелиальной дисфункции при хронической церебральной ишемии, особенно в свете современной концепции об этиологической связи между усилением оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции, при которой ряд маркеров свободнорадикального окисления (СРО) являются независимыми предикторами развития дисфункции сосудистого эндотелия [15].

Согласно современным представлениям, основной механизм атеротромбоза артериальных сосудов — это оксидативный стресс, инициируемый воспалением в сосудистых стенках, пораженных атероматозным процессом, и гиперкоагуляционная реакция крови, ведущие к прогрессированию эндотелиальной дисфункции, которая, в свою очередь, кульминирует тромбообразованием и развитием ишемии в церебральных тканях [2, 4]. В связи с этим нами проведен корреляционный анализ для выявления возможных взаимосвязей между статусом АОС крови и состоянием агрегационной активности тромбоцитов и эритроцитов у пациентов с церебральной ишемией острого и хронического генеза.

Установлено, что гиперагрегация кровяных пластинок, проявляющаяся увеличением степени и скорости коллаген-индуцированной агрегатометрии, имеет обратную ассоциацию с уровнем ОАА плазмы крови пациентов в первые 48 ч развития ИГМ:  $r=-0,58$  ( $p=0,028$ ) и  $r=-0,63$  ( $p=0,014$ ) соответственно. Это явление имеет объяснение, заключающееся в том, что агрегация тромбоцитов стимулируется большим количеством АФК [16], которые не утилизируются из-за дефицита активности АОС в острейшем периоде инфаркта мозга. Также в 1-е сутки наблюдения у пациентов с ишемическим инсультом зарегистрирована отрицательная корреляционная зависимость между активностью СОД и ГП эритроцитов и их агрегабельностью:  $r=-0,78$  ( $p=0,023$ ) и  $r=-0,69$  ( $p=0,032$ ) соответственно. При ХНМК зафиксирована обратная взаимосвязь между уровнем ОАА плазмы и интенсивностью АДФ-индуцированной тромбоцитарной агрегации:  $r=-0,52$  ( $p=0,036$ ). На 10-е сутки исследования при остром гипоксическом повреждении мозга сохранялась выявленная закономерность между активностью АОС и агрегацией клеток крови, однако сила взаимосвязи этих процессов стала слабее. У паци-

ентов с дисциркуляторной энцефалопатией корреляционный анализ не установил ассоциаций, обнаруженных при их госпитализации.

Таким образом, в дебюте ишемического инсульта и при обострении хронической церебральной ишемии возникает недостаточность ферментативных компонентов АОС крови за счет интенсивной генерации активированных кислородных метаболитов, что стимулирует агрегационную активность клеток крови с последующей окклюзией микроциркуляторного русла. В то же время после курса 10-дневной терапии пациентов с церебральной ишемией состояние ОАА плазмы крови имеет различия в зависимости от этиопатогенеза патологического процесса, что установлено впервые.

Анализ доступной литературы выявил ряд исследований, в которых представлена клиническая оценка процессов СРО при ОНМК или ХНМК [17–19] либо раскрываются механизмы антиоксидантной защиты организма при экспериментальной церебральной ишемии [20, 21]. Однако нами не найдено работ, посвященных комплексному исследованию состояния АОС крови при остром и хроническом нарушении мозгового кровообращения, включающему как изучение ферментативного звена антиоксидантной защиты эритроцитов, так и ОАА плазмы крови. Исследования в этом направлении представляют значительный научный и практический интерес, поскольку нейрональная ткань характеризуется большой чувствительностью к продуктам свободнорадикального окисления вследствие дефицита ферментов АОС, обусловленного высоким уровнем потребления кислорода и интенсивным метаболизмом в церебральных структурах, отсутствием в них запасов энергии, большим содержанием субстратов ПОЛ (полиненасыщенных жирных кислот) и низкой активностью антиоксидантных ферментов [3].

Нами впервые продемонстрировано, что при остром инфаркте мозга происходит нарушение процессов утилизации перекиси водорода, которое проявляется превалирующим снижением каталазной активности эритроцитов. Ведущая роль в антирадикальной защите организма при этом переходит к глутатионзависимому звену АОС, что свидетельствует о формировании компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных не только на утилизацию органических перекисей, но и устранение их цитотоксических эффектов. Однако сохраняющийся дисбаланс в системе антиоксиданты/прооксиданты на 10-е сутки лечения пациентов с ИГМ продемонстрировал функциональную несостоятельность компенсаторных реакций. Кроме того, при ОНМК на фоне проводимой антитромботичес-

кой терапии выявлено сохранение тяжелой неврологической симптоматики у пациентов с выраженным дефицитом ОАА крови, что было сопряжено с гиперагрегацией тромбоцитов и эритроцитов и вносило существенный вклад в нарушение микроциркуляции и оксигенации в тканях мозга.

Следовательно, выявленные изменения ферментативной активности АОС эритроцитов связаны с некомпенсированной активацией ПОЛ и образованием большого количества свободнорадикальных форм кислорода в очаге инфаркта мозга. Кроме того, активность ферментов АОС эритроцитов обуславливает эффективность системы транспорта кислорода, поскольку они непосредственно участвуют в процессах оксигенации гемоглобина и регуляции сродства гемоглобина к кислороду [22]. Полученные данные свидетельствуют о напряжении системы антиоксидантной защиты эритроцитов и плазмы в условиях острой и хронической церебральной ишемии, а также о несомненном вкладе функциональной активности эритроцитов в обеспечение восстановления адекватной кислородтранспортной функции крови у пациентов с острым ИГМ и ДЭП.

Изучение антиоксидантного статуса крови позволяет установить особенности патогенеза ишемических цереброваскулярных заболеваний и прогнозировать характер их клинического течения. В свою очередь, повышение активности антиоксидантной системы организма может улучшить эффективность терапевтических и профилактических мер для предотвращения первичных и повторных инсультов у пациентов с ишемическими цереброваскулярными заболеваниями.

#### **Выводы.**

1. Впервые установлено, что в дебюте заболевания при остром и хроническом нарушении мозгового кровообращения снижается мощность системы плазменных и эритроцитарных антиоксидантов. Причем при ОНМК наблюдается более значимое снижение ферментативной активности каталазы, что можно расценивать как признак глубоких метаболических нарушений и выраженного снижения адаптационных возможностей организма по сравнению с состоянием пациентов при ХНМК.

2. Статус АОС крови при церебральной ишемии на 10-е сутки госпитализации имеет различия в зависимости от этиопатогенеза патологического процесса. При остром ИГМ, несмотря на проводимую терапию, выявлено выраженное нарушение баланса между антиоксидантами и прооксидантами крови. На фоне снижения активности ферментов СОД и каталазы развивается активация ГП, которая не компенсирует дефицит активности АОС: снижение

ОАА крови ассоциировано с тяжестью ишемического инсульта на момент выписки пациентов из стационара. У пациентов с ДЭП наблюдается развитие компенсаторных реакций, способствующих восстановлению активности АОС на фоне лечения.

3. При ОНМК на фоне проводимой антитромботической терапии впервые выявлена тесная обратная

взаимосвязь между агрегационной способностью тромбоцитов и выраженностью дефицита ОАА крови, а также между агрегацией эритроцитов и активностью СОД и каталазы эритроцитарных мембран, что вносит существенный вклад в понимание процессов нарушения микроциркуляции и оксигенации в тканях мозга у пациентов с острым ИГМ.

### Литература

1. Feigin V. L., Krishnamurthi R. Stroke prevention in the developing world // *Stroke*.— 2011.— Vol. 42 (12).— P. 3655–3658.
2. Луцкий М. А., Есаулинко И. Э., Земсков А. М. Окислительный стресс при цереброваскулярных заболеваниях и инсульте. — М.: Медицина, 2012. — 189 с.
3. Roop H. F. et al. Free radicals and brain aging // *Clin. Geriatr. Med.*— 2004.— Vol. 20 (2).— P. 329–359.
4. Гончар И. А., Степанова Ю. И., Прудывус И. С. Биохимические предикторы и маркеры острого инфаркта мозга. — Минск: БелМАПО, 2013. — 512 с.
5. Romano A. D. et al. Oxidative stress and aging // *J. Nephrol.*— 2010.— Vol. 23, № 15.— P. 29–36.
6. Лукьянова Л. Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // *Патол. физиол.*— 2011.— № 1.— С. 3–19.
7. Сторожук П. Г. Ферменты прямой и косвенной антирадикальной защиты эритроцитов и их роль в инициации процессов оксигенации гемоглобина, антибактериальной защите и делении клеток // *Вестник интенсивной терапии*.— 2003.— № 3.— С. 8–13.
8. Гармаза Ю. М., Козлова Н. М., Артюшевская М. В. и др. Маркеры окислительного стресса в плазме пуповинной крови недоношенных новорожденных // *Медицинский академический журнал*.— 2013.— Т. 13, № 4.— С. 71–76.
9. Моин В. М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // *Лаб. дело*.— 1986.— № 12.— С. 724–727.
10. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // *Вопр. мед. химии*.— 1990.— № 2.— С. 88–91.
11. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl group // *Arch. Biochem. Biophys.*— 1959.— Vol. 82, № 1.— P. 70–77.
12. Королюк М. А. и др. Метод определения каталазной активности // *Лабораторное дело*.— 1988.— № 1.— С. 16–19.
13. Артюхов В. Г., Наквасина М. А. Биологические мембраны: структурная организация функции, модификация физико-химическими агентами. — Воронеж: Изд-во Воронежского государственного университета, 2000. — 296 с.
14. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? // *J. of Neurochemistry*.— 2006.— Vol. 97.— P. 1634–1658.
15. Ashfaq S. et al. Endothelial function and aminothiols biomarkers of oxidative stress in healthy adults // *Hypertension*.— 2008.— Vol. 52.— P. 80–85.
16. Zhang P. et al. The role of intraplatelet reactive oxygen species in the regulation of platelet glycoprotein Iba $\alpha$  ectodomain shedding // *Thrombosis Research*.— 2013.— Vol. 132, № 6.— P. 696–701.
17. Ижбульдина Г. И. Состояние свободно-радикального окисления липидов, системы гемостаза и функции эндотелия у больных в остром периоде ишемического инсульта, эффекты корректоров метаболизма: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Пермь, 2009. — 28 с.
18. Холопова Е. А. Ауторегуляция мозгового кровотока и активность свободнорадикальных процессов при хронической ишемии головного мозга: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2009. — 30 с.
19. Орлова А. С. Особенности течения свободнорадикальных процессов у коморбидных у больных при остром инсульте и транзиторных ишемических атаках: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2014. — 28 с.
20. Федорова Т. Н. Окислительный стресс и защита головного мозга от ишемического повреждения: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2004. — 43 с.
21. Степанова М. С. Коррекция окислительного стресса мозга с помощью природных и синтетических антиоксидантов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2011. — 31 с.
22. Глебов А. Н., Шульга Е. В., Зинчук В. В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом. — Гродно: ГрГМУ, 2011. — 216 с.

Поступила в редакцию: 7.11.2014 г.

Контакт: Степанова Юлия Игоревна, st.juli@iut.by

### Сведения об авторе:

Степанова Юлия Игоревна — доцент кафедры клинической лабораторной диагностики Белорусской медицинской академии последипломного образования, канд. мед. наук. Адрес: Беларусь, 220030, г. Минск, ул. К.Маркса, 8–63, тел. +375 3284632

*Гармаза Юлия Михайловна* — к.б.н, научный сотрудник лаборатории медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Адрес: Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27. e-mail: [garmaza@yandex.ru](mailto:garmaza@yandex.ru)

*Слобожанина Екатерина Ивановна* — д.б.н., проф., член-корр. НАНБ, зав. лабораторией медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Адрес: Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27. e-mail: [slobozhanina@ibp.org.by](mailto:slobozhanina@ibp.org.by)

*Камышников Владимир Семенович* — д. м. н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики Белорусской медицинской академии последипломого образования. Адрес: Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3. e-mail: [kafdiag@mail.ru](mailto:kafdiag@mail.ru)

*Зубрицкая Галина Петровна* — младший научный сотрудник лаборатории медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Адрес: Беларусь, 220072, г. Минск ул. Академическая, 27.

*Кутько Анна Григорьевна* — Младший научный сотрудник лаборатории медицинской биофизики Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Адрес: Беларусь, 220072, г. Минск ул. Академическая, 27.

### Глубокоуважаемые коллеги!

Оргкомитет имеет честь пригласить Вас на III Межрегиональный симпозиум «ВИЧ-медицина и фармакоэкономика», который состоится 19 февраля 2015 г. Оргкомитет: академик РАН Н. А. Беляков.

Место проведения: г. Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 43/1, гостиница «Азимут», Вход № 2, 18 этаж, (ст. метро «Балтийская»).

Информация о мероприятии размещена на сайте: [www.hiv-spb.ru](http://www.hiv-spb.ru)

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

УДК 616.8:616-002

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ВОСПАЛЕНИИ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

<sup>1,2</sup>Наото Каваками, <sup>2</sup>Хартмут Векерле

<sup>1</sup>Институт клинической нейробиологии, Университет им. Людвига-Максимилиана, Мюнхен, Германия

<sup>2</sup>Институт нейробиологии им. Макса Планка, Мартинсрид, Германия

## VIEWING INTO THE CNS INFLAMMATION

<sup>1,2</sup>Naoto Kawakami, <sup>2</sup>Hartmut Wekerle

<sup>1</sup>Institute of Clinical Neuroimmunology, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany and Neuroimmunology

<sup>2</sup>Max-Planck Institute of Neurobiology, Martinsried, Germany

© Наото Каваками, Хартмут Векерле, 2014 г.

Экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ) использован в качестве модели для исследования аутоиммунного заболевания человека — рассеянного склероза, который характеризуется воспалением центральной нервной системы (ЦНС). В этом обзоре мы сосредоточимся на одном из вариантов ЭАЭ, индуцированного введением энцефалитогенных аутоантигенных специфических Т-клеток (модель переноса). Описаны возможности применения этой модели для экспериментального исследования и терапевтического применения. Кроме того, представлена методика двухфотонной прижизненной визуализации, которая позволяет наблюдать и отслеживать флуоресцентно меченных энцефалитогенных Т-клеток в живом организме в режиме реального времени. С помощью этой методики и использования датчиков активации клеток продемонстрировано, что мигрирующие Т-клетки активируются при контакте с локальными антигенпрезентирующими клетками. Полученные результаты показывают, что использованная модель ЭАЭ полезна для понимания механизмов инициирования воспаления в ЦНС.

**Ключевые слова:** экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, аутореактивные Т-клетки, прижизненная визуализация, активация Т-клеток.

Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) has been used for human autoimmune disease, Multiple Sclerosis (MS), which is characterized by inflammation in the Central Nerve System (CNS). In this review, we focus one of EAE variants, transfer EAE induced by adoptive transfer of encephalitogenic autoantigen specific T-cell clone. We describe about the model and introduce the application of this model for experimental research and therapeutic development. In addition, we introduce two-photon intravital imaging, which enable to observe and track fluorescently labeled encephalitogenic T-cells in living animal in real time. Further, by using activation sensors, which detect cellular activation during intravital imaging, we show migrating T-cells become activate upon contacting with local antigen presenting cells. The obtained results reveal that the transfer EAE model is useful to understand the mechanisms of initiating CNS inflammation.

**Key words:** Experimental Autoimmune Encephalomyelitis, autoreactive T-cells, intravital imaging, T-cell activation.

**Introduction.** Almost 150 years have passed since Charcot described the pathogenic lesions of MS as circumscribed plaques distributed through the brain and spinal cord white matter, a picture which led him to name the disease *sclérose en plaques*. Subsequent microscopic studies established the key changes dominating the pathological plaque tissue. These included degeneration of myelin and axons, as noted by Charcot himself, and inflammatory round cell infiltrations often around small blood vessels described about the same time by Rindfleisch (quoted from [1]).

It took until recently to gain insight into the connection between neurodegeneration and inflammation. We

now understand that most of the inflammatory cells are CD8<sup>+</sup> T-cells along with CD4<sup>+</sup> T-cells, macrophages and some sprinkling of B-cells. Importantly, analyses of CD8<sup>+</sup> T-cell receptors hint to active proliferative response driven by some stimulus. Current hypothesis: T-cells attack brain autoantigens, kindle a cascade of events that ultimately culminates in the pathognomonic myelin and axon destruction.

While this pathogenesis appears conclusive, it violates one basic tenet of brain physiology, namely the immune privileged status of the CNS tissues. It is undisputed that the CNS parenchyma is secluded from the peripheral blood circulation by a tight endothelial

Blood-Brain Barrier (BBB). How could the inflammatory cells be able to cross this forbidding barricade?

Studies of suitable animal models have revealed the complex mechanisms involved in the passage of inflammatory cell into the CNS. In the following we shall display our current understanding of these events and describe the technologies that have been used in our experimentation.

**T-cell transferred Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and some applications.** The term of *Experimental Autoimmune Encephalomyelitis* (EAE) denominates a set of animal models featuring brain autoimmune inflammation mediated by activated autoreactive T-lymphocytes. The variety of EAE models is determined by different way of induction in different animals [2]. Although none of EAE model perfectly matches MS pathology, at least, each model recapitulates particular aspects of human disease. Therefore, depending on the purpose, the best suited model version must be selected.

In our studies, we used mainly transfer EAE in the Lewis rats to study the function of autoreactive T-cells in early stages of CNS inflammation. This model was developed by Ben-Nun, Wekerle and Cohen who described isolation encephalitogenic T-cells from healthy, antigen primed animals, expansion of these cells in vitro as pure cell lines, and, revealing the encephalitogenicity of cells after adoptive transfer of cells [3]. Transfer-EAE was decisively refined by Flügel et al. by labeling encephalitogenic T-cells with the genetic marker Green Fluorescent Protein (GFP) [4]. Indeed, previously encephalitogenic T-cells were labeled with small molecular dyes. However, since encephalitogenic T-cells were vividly dividing, it was not possible to achieve stable labeling for more than some days. In rat transfer EAE system, T-cells need 3–4 days until they penetrate into the CNS and induce inflammation, the T-cells cannot be analyzed by ex vivo study. Flügel et al. overcame this by introducing GFP by retroviral gene transfer. Such engineered T-cells express GFP stably and can be analyzed at single cell level for their activation status and expression of cell surface molecules [5]. The model showed excellent reproducibility on the T cell infiltration kinetic into the CNS and following time kinetic of disease course. Therefore, this is the optimal model to study T cell infiltration.

The transfer EAE models were used to evaluate the pathogenic potential of human autoantibodies. For example, Mathey et al. evaluated the effect of autoantibody which mimics autoantibody in the patients of MS [6]. They transferred anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein (MOG) specific T-cells to open the Blood-Brain Barrier as prerequisite of CNS inflammation and EAE induction. When animals showed the first

sign of clinical, autoantibody was injected, resulting exacerbated clinical severity. A similar system was used by Bradl et al to evaluate of anti-aquaporin-4 antibodies purified from patients of neuromyelitis optica [7]. The injected antibodies exacerbated clinical symptoms. These results proved the usefulness of the EAE model to evaluate the effect of pathogenic autoantibodies.

The model was further used to validate the therapeutic effect of candidate drugs. The most spectacular success of transfer-EAE based studies was the discovery of Natalizumab, an anti-integrin  $\alpha 4$  blocking antibody, which was humanized and approved for MS therapy. Administration of anti-integrin  $\alpha 4$  antibody suppressed the development of clinical EAE effectively. As mentioned later, intravital imaging showed that this is due to inhibition of autoreactive T-cell infiltration into the CNS [8].

Another case is immunospecific treatment via injection of soluble autoantigens. At the different time point after adoptive transfer of GFP labeled Myelin Basic Protein (MBP) specific T-cells ( $T_{\text{MBP-GFP}}$  cells), soluble MBP was infused intravenously. When MBP was given before onset of EAE, clinical symptoms were almost completely diminished [9], whereas the treatment after onset exacerbated the clinical severity [10]. Analyses of ex vivo isolated  $T_{\text{MBP-GFP}}$  cells showed that soluble antigen treatment *before* onset trapped T-cells in spleen and prevent their penetration into the CNS, resulting prevention of EAE. On the other hand, treatment *after* onset of EAE also stopped and activated T-cells, this time not in the spleen but in the CNS. As result of activation,  $T_{\text{MBP-GFP}}$  cells produced massive amount of inflammatory cytokines, which exacerbated the clinical severity. This emphasizes the importance of the timing for soluble antigen treatment and the of T-cell activation in the CNS.

The encephalitogenicity of autoantigen specific T-cells critically depends on their antigen specificity and their genetic background. For example, MBP specific T-cells in Lewis rat as well as MOG specific T-cells in DA rat are highly encephalitogenic. However, MOG specific T-cells in Lewis rats are weakly encephalitogenic. By comparing these cell lines by ex vivo study, we found that the T-cell activation in the CNS is crucial to induce inflammation [11]. Indeed, when calcium signaling in the T-cells, which is important intracellular signaling for T-cell activation, were blocked pharmacologically, EAE clinical severity was ameliorated [12].

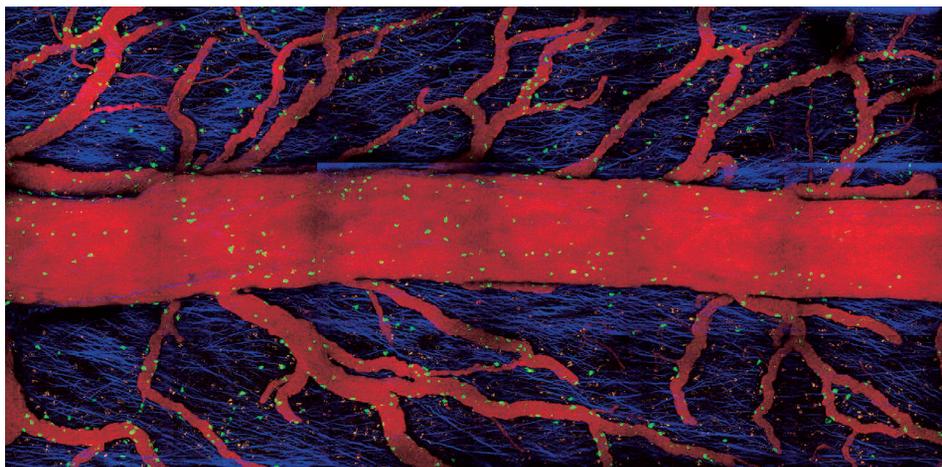
Finally transfer EAE allowed important insights into the clinical changes surrounding CNS inflammation. The adoptive transfer of  $T_{\text{MBP-GFP}}$  cells induces massive acute inflammation in the CNS, but different brain regions are affected with different intensity. By using this system, Perekrest et al. examined the function of orexin-

producing neurons (Perekrest et al., in press). We found that during the acute phase of EAE the number of orexin producing neuron decreased, whereas the orexin mRNA increased, indicating that CNS inflammation definitely influence the orexin production and usage. Since orexin is known to influence sleeping disorder and fatigue, this may explain some of clinical problems observed in MS patients.

**Intravital imaging of T cell infiltration into the CNS.** In transfer EAE model, disease is induced exclusively by encephalitogenic T-cells. This raises the question of how these autoreactive T-cells infiltrate the CNS and induce inflammation. To this end, we performed intravital imaging of T-cells in the living animal at the single cell level. Genetically labelled  $T_{MBP-GFP}$  cells were imaged by two-photon microscopy within the living animals during pre-clinical and acute phase of EAE [8] (Figure).

penetrate deeper and induce less phototoxicity. In our experimental set-up, the penetration depth reaches 200  $\mu\text{m}$  from the surface, which covers leptomeninges and upper part of white matter parenchyma of rat spinal cord. The penetration depth depends on intensity of labeling, giving laser power, and scattering of tissue. In the best case, penetration depth can reach more than 1 mm. These futures makes two-photon microscope as optimal technique for intravital imaging.

In our intravital imaging studies, we observed  $T_{MBP-GFP}$  cells appearing in spinal cord leptomeningeal blood vessels as early as day 1 after transfer, which is far before onset of clinical signs. The number of  $T_{MBP-GFP}$  cells increased within next 24 hours, but the vast majority of  $T_{MBP-GFP}$  cells remained within the vessels. Three-dimensional reconstitution revealed that those cells adhered and migrated on the intraluminal surface of leptomeningeal vessels with an average speed of



**Figure.** Panoramic picture of spinal cord leptomeninges after adoptive transfer of  $T_{MBP-GFP}$  cells at the preclinical phase.

Figure legend: majority of  $T_{MBP-GFP}$  cells (green) locate within the blood vessels (red). Collagen fibers (blue).

To perform stable and long-term imaging, the animal were intubated and anesthetized by isoflurane [13].  $O_2$ ,  $CO_2$  and isoflurane concentration in the inspiratory and expiratory gas as well as airway pressure were monitored and recorded during entire imaging session. In addition, body temperature was kept between 35–37° C degrees by using heating blanket combined with monitoring system. Furthermore, electrocardiography was recorded and tail vein was catheterized for injection. For the T cell imaging at the spinal cord, laminectomy was performed at the upper part of lumbar spinal cord after fixed animal in the custom made stage. This set-up allows stable imaging for many hours.

For acquiring the image, we made use of two-photon microscope, which has been reviewed in detail previously [14, 15]. Briefly, two-photon microscopy uses two-fold longer wavelength to excite fluorochrome than conventional microscopy. The longer waved excitation light can

13  $\mu\text{m}/\text{min}$ . Interestingly, the  $T_{MBP-GFP}$  cells preferentially migrated *against* the blood stream, a behavior that is still without explanation.

We examined the molecular mechanisms behind the intraluminal crawling by infusion of blocking antibodies during intravital imaging. This approach allowed comparing T cell motility before and after treatment in same condition. Among a panel of antibodies tested, an anti-integrin  $\alpha 4$  antibody showed the most remarkable effect. Within a few minutes after infusion, the antibody diminished intraluminal crawling completely. The  $T_{MBP-GFP}$  cells could not adhere on the intraluminal surface of endothelial cells and washed out by blood stream. In contrast of intraluminal cells, extravasated  $T_{MBP-GFP}$  cells were not affected. A similar antibody, Natalizumab, had been humanized and approved for MS treatments as *Tysabri*<sup>R</sup> [16]. Importantly Natalizumab showed beneficial effects on MS patients, presumably, by bloc-

king intraluminal crawling and following extravasation as shown in animal model. Of note, an anti-LFA-1 antibody (integrin  $\alpha$ L) which alone did not showed strong effect, enhances the effect of anti-integrin  $\alpha$ 4.

As a next step, crawling  $T_{MBP-GFP}$  cells cross the BBB. The BBB is composed of three main layers, a tight endothelial tube sealed by tight junctions, an endothelial basement and a parenchymal membrane. This barrier safeguards the special properties of the CNS tissues as an immune privileged microenvironment. According to intravital imaging data,  $T_{MBP-GFP}$  cells pass through BBB within 10–20 minutes.  $T_{MBP-GFP}$  cells adhere at one place, changing their shape, and extravasated. At the same time, there is frequently leakage of blood plasma, as indicated by the leakage of fluorescent dextran, a marker for visualization of blood vessels. Today it is still an open question, whether T-cells extravasate from specific points or the molecular mechanism for extravasation.

Once extravasated, the T-cells continue crawling randomly on outer surface of the blood vessels, until they interact with local antigen presenting phagocytes, APCs. In our experimental set-up, APCs were labeled with phagocytosis of fluorescent dextran conjugates. Ex-vivo analyses showed that they express MHC class II as a prerequisite to present antigen to CD4 T-cells. Additionally, APC expressed macrophage-like cell surface marker, which is different from a previous study which showed dendritic markers [17]. The interactions between infiltrated  $T_{MBP-GFP}$  cells and APC were dynamic and duration can reach more than 60 minutes.

Since intravital imaging is limited to a maximal depth of 200  $\mu$ m, imaging of the deeper spinal cord parenchyma was performed using *acute slice explants* [18]. Two-photon imaging detected two different T-cellular motility modes in the CNS parenchyma. We distinguished on the one hand highly motile cells, which moved spontaneously through the tissue, and on the other hand there were stationary cells which were fixed at a particular point swaying their bodies. We concluded that the motile T-cells are looking for their specific antigens, whereas the stationary cells are committed in antigens recognition. The reasons were as follows: 1)  $T_{OVA-GFP}$  cells, which do not find antigen in the native CNS showed extensively the motile mode. 2) Blocking of MHC class II shifted the proportion of stationary cells towards the motile cells. 3) In contrast, addition of specific antigen increased stationary cells and decreased motile cells.

We detected T-cell arrest both in the spinal cord parenchyma [18] as well as in the leptomeninges [8], which presumably represent presentation/recognition of endogenous antigen by APCs in both compartments. As described above, we also found that the autoimmune

T-cells were re-activated in the CNS, which is an essential prerequisite for CNS inflammation [11]. However, for technical limitations, it was not possible to directly connect between T-cell arrest/interaction with APC and their activation. Therefore, we proceed to establish intravital imaging of T-cell activation.

**Visualizing T cell activation *in vivo*.** To detect T-cell activation at real-time, we used two distinct intracellular signaling events within T-cells. One is the elevation of intracellular calcium concentration which is contributed firstly by release of calcium stored in endoplasmic reticulum and secondly by the influx of extracellular calcium after opening calcium channel on cell surface [19]. The second event used is the translocation of Nuclear Factor of Activated T-cells (NFAT). The elevated intracellular calcium activates calcineurin pathway and dephosphorylated NFAT, which induce quick relocation of NFAT from cytosol to nucleus.

Conventional studies used small synthetic calcium sensing molecules, such as Indo and Fura to monitor intracellular calcium levels. These were of little use here, as T-cells actively pump out these dyes. In addition, T-cells, especially the freshly activated effector T-cells used for transfer-EAE, proliferate vividly. As a result, calcium sensing dyes becomes invisible within a few hours. Therefore, to detect the change of intracellular  $Ca^{2+}$ , we used a Fluorescent Resonance Energy Transfer (FRET)-based calcium sensing protein. The protein consists of a cyan fluorescent protein (CFP) and a yellow fluorescent protein (YFP) connected by the calcium sensing domain derived from troponin C (20). However, although the initial indicator protein readily detected changes of intracellular  $Ca^{2+}$  in neuronal cells, it was not expressed in T-cells neither in transgenic mice, nor after retroviral transduction [21]. After a systematic search of this failure, we found that high homology between CFP and YFP sequence as well as tandem repeat sequence in calcium sensing domain cause homologous recombination during retrovirus production. Therefore, to reduce the homology, we performed codon diversification, by changing nucleotides, but keeping amino acids sequence unchanged. The codon diversified protein, named Twitch1, was successfully expressed in mouse T-cells by retroviral gene transfer and T-cells were stably express Twitch1 for longer time.

Twitch1 expressing MOG specific T-cells ( $T_{MOG-Twitch1}$  cells) or OVA specific T-cells ( $T_{OVA-Twitch1}$  cells) were adoptively transferred in recipient animals. At first, we performed intravital imaging within the peripheral lymph node to test the functionality of these T-cells [21]. Both  $T_{MOG-Twitch1}$  cells and  $T_{OVA-Twitch1}$  cells moved within the popliteal lymph node and occasionally showed short-lasting calcium spikes, which were caused by antigen independent stimula-

tion. Intravenous application of soluble antigen, which provides massive antigen dependent stimulation, changed the situation dramatically. Now the T-cells were arrested and showed saturated high intercellular calcium levels. These results indicated that the Twitch sensor properly detected T-cell activation *in vivo*. As a next step, we followed T-cell activation following more physiological stimulation. Therefore, after adoptive transfer of  $T_{\text{MOG-Twitch1}}$  cells or  $T_{\text{OVA-Twitch1}}$  cells together with EAE induction by active immunization of MOG emulsified in CFA was imaged. Intravital imaging at the spinal cord leptomeninges was performed at the peak of disease when T-cells infiltrated into the CNS.  $T_{\text{OVA-Twitch1}}$  cells in the CNS showed occasionally short-lasting calcium spikes which were also observed in peripheral lymph nodes, and presumably were antigen independent. In contrast,  $T_{\text{MOG-Twitch1}}$  cells showed more frequent and longer-lasting calcium spikes as well as reduced T-cell motility. Also such spikes were often observed when T-cells interacted with local APCs. Similar as observed in peripheral lymph node, the application of soluble antigen further enhanced T-cell arrest and saturated calcium signaling in T-cells, indicating that local APC are not saturated by endogenous antigen in line with our previous observation [8].

As another, complementary sensor, we chose NFAT. This transcription factor was truncated to minimize artefacts potentially caused by overexpression of exogenous protein and fused with GFP for visualization (NFAT-GFP) [22]. Retroviral transduction of this gene construct results in successfully expression of NFAT-GFP in the T-cells without interfering with the T-cells' function and encephalitogenic potential. We compared NFAT expressing highly encephalitogenic MBP specific T-cells ( $T_{\text{MBP-NFAT-GFP}}$  cells) and weakly encephalitogenic MOG specific T-cells ( $T_{\text{MOG-NFAT-GFP}}$  cells) in the Lewis rats. Intravital imaging showed that, regardless of T-cell antigen specificity, T-cells during intraluminal crawling as well as rolling maintained NFAT in their cytosol, indicating that these T-cells were not activated within the vessels. In contrast to intraluminal T-cells, in a substantial part of extravasated  $T_{\text{MBP-NFAT-GFP}}$  cells NFAT was translocated to the nucleus, indicating an activated status. More directly, intravital imaging at the spinal cord leptomeninges showed NFAT translocation from cytosol to nucleus upon interaction of the T-cells with local APC. The freshly activated T-cells often continue its interaction for a while before they dissociate from the APC to continue migration. We commonly observed that certain APCs activated more than one T-cell either simultaneously or sequentially, while other APCs fail to activate T-cells. These results confirm that some special APC present endogenous antigen to infiltrated autoreactive T-cells.

NFAT translocation was related to the pathogenic activity of autoimmune T-cells. Weakly encephalitogenic  $T_{\text{MOG-NFAT-GFP}}$  cells rarely showed nuclear localized NFAT-GFP after extravasation. This is in line with our previous observation that MOG specific T-cells were not activated within the CNS [11]. As result of failed activation, the MOG specific T-cells do not induce severe clinical EAE. Similar application of NFAT as activation sensors were performed by Lodygin et al. which also detect activation of highly encephalitogenic T-cells within the spinal cord leptomeninges by using intravital imaging [23].

By using two distinct activation sensors, we directly identified T-cell activation in the spinal cord as critical event for triggering CNS inflammation. The two sensors used were not redundant but rather were complementary indicators. Calcium elevation describes very early events after TCR mediated stimulation and very sensitive to detect weak and short lasting stimulation, whereas NFAT translocation integrates these early signals that ultimately lead to full cell activation. The combination of two sensors deepens the understanding of activation. For example, it will be useful to study whether T-cell can accumulate weak stimulation to get final activation. Importantly, both sensors can be applied other types of cells, which will certainly help to study and visualize entire immune cell networks.

**Conclusion.** Brain autoimmunity starts out in the peripheral immune system, where self-reactive T-cells, which are regular components present in the healthy immune repertoire, are activated to expose their autoimmune potential. Migrating through peripheral immune compartments, these activated T-cells undergo changes [5] that render them competent for entry into the CNS tissues shielded by a complex microvascular blood-brain barrier. This passage is a complicated step-by-step process [13]. Circulating autoimmune T-cells first attach to the endothelium of CNS blood vessels and roll along this surface driven by blood stream. Then, with their attachment becoming firmer, the T-cells start to crawl, now often against the blood stream, until they find or create a gap through the endothelial sheath. Beyond the vessel, the T-cells establish contacts with local antigen presenting phagocytes, which guide them towards the CNS parenchyma and instruct them to invade the tissue. T-cell interactions with antigen presenting phagocytes cause sustained calcium signals resulting in full activation detected by translocation of NFAT. These observations were made with a combination of advanced imaging technologies in living animals and the use of newly developed functional genetic fluorochrome makers allowing the staging at real-time of cell activation processes.

**Funding.** This project was supported by DFG research grant (NK) and DFG Heisenberg fellowship

(NK), DFG Transregio CRC/TR128 (HW), DFG collaborative research center CRC571 (project C6 for NK, B6 for HW), SyNergypogram (HW), KKNMS (NK), Novartis Foundation for Therapeutic Research (NK), Hertie Foundation (HW), Else Kröner-Fresenius Foundation (NK), Ludwig-Maximilian University Munich and Max-Planck Society.

### References

1. *Lassmann H.* Multiple sclerosis pathology: Evolution of pathogenetic concepts. *Brain Pathology* 2005.— Vol. 15.— P. 217–222.
2. *Gold R., Linington C., and Lassmann H.* Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research // *Brain*.— 2006.— Vol. 129.— P. 1953–1971.
3. *Ben-Nun A., Wekerle H., and Cohen I. R.* The rapid isolation of clonable antigen-specific T lymphocyte lines capable of mediating autoimmune encephalomyelitis // *European Journal of Immunology*.— 1981.— Vol. 11.— P. 195–199.
4. *Flügel A., Willem M., Berkowicz T., and Wekerle H.* Gene transfer into CD4 + T-lymphocytes: Green fluorescent protein engineered, encephalogenic T cells used to illuminate immune responses in the brain // *Nature Medicine*.— 1999.— Vol. 5.— P. 843–847.
5. *Flügel A., Berkowicz T., Ritter T. et al.* Migratory activity and functional changes of green fluorescent effector T-cells before and during experimental autoimmune encephalomyelitis // *Immunity*.— 2001.— Vol. 14.— P. 547–560.
6. *Mathey E. K., Derfuss T., Storch M. K. et al.* Neurofascin as a novel target for autoantibody-mediated axonal injury // *Journal of Experimental Medicine*.— 2007.— Vol. 204.— P. 2363–2372.
7. *Bradl M., Misu T., Takahashi T. et al.* Neuromyelitis optica: Pathogenicity of patient immunoglobulin *in vivo* // *Annals of Neurology*.— 2009.— Vol. 66.— P. 630–643.
8. *Bartholomäus I., Kawakami N., Odoardi F. et al.* Effector T-cell interactions with meningeal vascular structures in nascent autoimmune CNS lesions // *Nature*.— 2009.— Vol. 462.— P. 94–98.
9. *Odoardi F., Kawakami N., Li Z. X. et al.* Instant effect of soluble antigen on effector T-cells in peripheral immune organs during immunotherapy of autoimmune encephalomyelitis // *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*.— 2007.— Vol. 104.— P. 920–925.
10. *Odoardi F., Kawakami N., Klinkert W. E. F. et al.* Blood-borne soluble protein antigen intensifies T-cell activation in autoimmune CNS lesions and exacerbates clinical disease // *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*.— 2007.— Vol. 104.— P. 18625–18630.
11. *Kawakami N., Lassmann S., Li Z. et al.* The activation status of neuroantigen-specific T cells in the target organ determines the clinical outcome of autoimmune encephalomyelitis // *Journal of Experimental Medicine*.— 2004.— Vol. 199.— P. 185–197.
12. *Cordiglieri C., Odoardi F., Zhang B. et al.* Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate-mediated calcium signalling in effector T-cells regulates autoimmunity of the central nervous system. *Brain*.— 2010.— Vol. 133.— P. 1930–1943.
13. *Kawakami N., and Flügel A.* Knocking at the brain's door: intravital two-photon imaging of autoreactive T-cell interactions with CNS structures // *Semin. Immunopathol.*— 2010.— Vol. 32.— P. 275–287.
14. *Kawakami N., Bartholomäus I., Pesic M., and Mues M.* An autoimmunity odyssey: how autoreactive T-cells infiltrate into the CNS // *Immunol Rev.*— 2012.— Vol. 248.— P. 140–155.
15. *Helmchen F. and Denk W.* Deep tissue two-photon microscopy // *Nature Methods*.— 2005.— Vol. 2.— P. 932–940.
16. *Ransohoff R. M.* Natalizumab for multiple sclerosis // *New England Journal of Medicine*.— 2007.— Vol. 356.— P. 2622–2629.
17. *Greter M., Heppner F. L., Lemos M. P. et al.* Dendritic cells permit immune invasion of the CNS in an animal model of multiple sclerosis // *Nature Medicine*.— 2005.— Vol. 11.— P. 328–334.
18. *Kawakami N., Nägerl U. V., Odoardi F. et al.* Live imaging of effector cell trafficking and autoantigen recognition within the unfolding autoimmune encephalomyelitis lesion // *Journal of Experimental Medicine*.— 2005.— Vol. 201.— P. 1805–1814.
19. *Ohhora M., and Rao A.* Calcium signaling in lymphocytes // *Current Opinion in Immunology*.— 2008.— Vol. 20.— P. 250–258.
20. *Mank M., Santos A. F., Drenth S. et al.* A genetically encoded calcium indicator for chronic *in vivo* two-photon imaging // *Nature Methods*.— 2008.— Vol. 5.— P. 805–811.
21. *Mues M., Bartholomäus I., Thestrup T. et al.* Real-time *in vivo* analysis of T-cell activation in the central nervous system using a genetically encoded calcium indicator // *Nature Medicine*.— 2013.— Vol. 19.— P. 778–783.
22. *Pesic M., Bartholomäus I., Kyrtsov N. I. et al.* 2-photon imaging of phagocyte-mediated T-cell activation in the CNS // *J. Clin. Invest.*— 2013.— Vol. 123.— P. 1192–1201.
23. *Lodygin D., Odoardi F., Schlager C. et al.* A combination of fluorescent NFAT and H2B sensors uncovers dynamics of T-cell activation in real time during CNS autoimmunity // *Nat Med.*— 2013.— Vol. 19.— P. 784–790.

Поступила в редакцию: 08.12.2014 г.

### Corresponding author:

Naoto Kawakami — Max-Lebsche-Platz 31, 81377 Munich, Germany, e-mail: Naoto.kawakami@med.uni-muenchen.de, tel: +49 89 4400 78386, fax: +49 89 4400 78380.

УДК 616.831-005

## КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ ОРГАНИЗМА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ И ПОПЫТКА ЛЕЧЕНИЯ

*Е. Г. Рыбакина, С. Н. Шанин, Е. Е. Фомичева, Т. А. Филатенкова, Е. В. Дмитриенко*  
ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

## CELL-MOLECULAR MECHANISMS OF PROTECTIVE FUNCTION'S CHANGES UNDER TRAUMATIC BRAIN INJURY AND WAYS FOR IT'S MEDICATION

*E. G. Rybakina, S. N. Shanin, E. E. Fomicheva, T. A. Filatenkova, E. V. Dmitrienko*  
Institute of Experimental Medicine of the North West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences,  
St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Сведения об изменении функций иммунной системы при черепно-мозговой травме (ЧМТ) имеют большое значение для прогноза характера течения заболевания и контроля эффективности проводимой терапии, однако этот вопрос недостаточно освещен в современной литературе. В экспериментах на животных для нанесения ЧМТ использовали модель «падающего груза». Исследован комплекс нарушений защитных реакций на системном и клеточно-молекулярном уровнях. Показано длительное нежелательное повышение цитотоксической и пролиферативной активности спленоцитов, стрессобусловленное изменение концентрации гормонов и цитокинов, повышение уровней экспрессии генов цитокинов и глиальных ростовых факторов в клетках мозга, которые являются информативными показателями нарушения функций иммунной системы после ЧМТ. Лечение травмированных животных препаратом нуклеотидной природы Деринат приводит к нормализации активности защитных функций организма.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, защитные реакции организма, гормоны, цитокины, Деринат.

Data about immune systems function's changes under traumatic brain injury (TBI) means a lot for character pathology development's prognosis and control of effectively applied therapy, but this data is not enough coverage in world literature. In experiments on animals for expressing TBI the model of «dropping weight» was used. Complex of protective functions disturbance on system and cell-molecular levels was investigated. Protractedly unlikable elevation of cytotoxic and proliferative activity of splenocytes, stress-induced changes of hormones and cytokines concentration, increasing level of cytokines and glial growth factors' gene expression in brain cells were shown, what are informative data disturbance of protective functions after TBI. Thou after medication of rats with nucleotide nature preparation Derinat normalization of protective reactions was observed.

**Key words:** traumatic brain injury, protective reactions, hormones, cytokines, Derinat.

**Введение.** По современным представлениям при развитии любой формы патологии интенсивность защитных функций организма обеспечивается комплексом реакций врожденного и адаптивного иммунитета и механизмов их регуляции. Исследование нарушений этих механизмов открывает новые пути и возможности для адресного воздействия на них с целью коррекции активности защитных функций и, таким образом, лечения заболеваний различной природы. В Отделе общей патологии и патофизиологии, руководимом в течение 3 десятилетий академиком РАН, профессором Е. А. Корневой, такие исследования проводятся на экспериментальных моделях различных форм патологии, прежде всего

обуславливающих нарушение взаимодействия нейроэндокринной и иммунной систем, в том числе и при черепно-мозговой травме.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из главных причин смерти и недееспособности людей в современном мире [1–3], характеризуется высокой летальностью и инвалидизацией пострадавших, стойкой или временной утратой трудоспособности. Последствия ЧМТ различны: изменения личности, когнитивных способностей, нарушения функций двигательной и иммунной систем [1, 4]. В мире травма как причина смерти населения занимает третье место, уступая лишь сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям [5]. По данным

последних лет, в основе патогенеза травматической болезни чаще всего лежат развивающиеся или прогрессирующие нарушения функций центральной нервной системы, интегративной деятельности мозга, нейроиммунных взаимодействий [1, 2]. Однако изменение активности функций иммунной системы в патогенезе черепно-мозговой травмы мало освещено в современной литературе, хотя ее оценка у пострадавших в посттравматическом периоде имеет большое значение для прогноза характера течения заболевания и контроля эффективности проводимой терапии [3, 5]. Исследование изменений лиганд-рецепторных и клеточно-молекулярных механизмов реализации иммунных реакций при травматической болезни и возможности их коррекции остаются одним из актуальных направлений развития экспериментальной медицины [4, 5].

Так как ЧМТ является гетерогенным заболеванием [5, 7] и у пациентов со сходными клиническими симптомами наблюдаются различные нарушения на молекулярном уровне, для анализа ЧМТ в эксперименте было разработано значительное количество моделей. Модель «падающего груза» («weight-drop model»), в которой травма наносится в результате свободного падения груза на голову животного, является одной из наиболее используемых моделей ЧМТ у грызунов [8–10]. Повреждения мозга в этой модели широки: от легких, моделирующих сотрясение головного мозга, до очаговых ушибов (под местом падения груза на череп), сопровождающихся вторичной гибелью дистантно расположенных нервных клеток, что приводит к нарушению двигательной и когнитивной функций [6, 9]. При использовании этой модели на мозг действуют сбалансированные силы удара и ускорения [8, 11].

В последние годы предметом специальных исследований стало изучение возможности коррекции нарушенных защитных функций организма, в том числе и при ЧМТ, факторами химической и физической природы [4, 12, 13]. По современным представлениям нуклеотиды являются не только носителями генетической информации, но и участвуют в процессах регуляции различных функций организма, осуществляя действие через пуриnergические Р2-рецепторы, экспрессированные на поверхности различных клеток, в том числе клеток иммунной и нервной систем [15]. С учетом этих новых и принципиально важных данных в целях коррекции функций иммунной системы при ЧМТ использовали препарат нуклеотидной природы — Деринат (АО ФП «ТЕХНОМЕДСЕРВИС», Москва), который представляет собой натриевую соль двуспиральной высокоочищенной нативной ДНК (молекулярная

масса 270–500 кДа). Основными мишенями действия Дерината являются иммунокомпетентные клетки, хотя показана его радиопротекторная, противовирусная и регенеративная активность [14].

Иммуномодулирующий эффект Дерината, введенного в организм, основан на его способности проникать в клетки путем пиноцитоза с последующим расщеплением до нуклеотидов [15].

**Целью работы** явилось исследование изменений функциональной активности иммунокомпетентных клеток (лимфоцитов и естественных киллерных клеток селезенки), концентрации глюкокортикоидных гормонов, тестостерона, содержания цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$ ) в крови крыс, а также экспрессии генов ИЛ-1 и ИЛ-10 в клетках гипоталамуса крыс и генов некоторых ростовых факторов, вырабатываемых клетками микроглии мозга у животных с экспериментальной ЧМТ. Предпринята попытка лечения травмированных животных препаратом Деринат, в частности, определение его корригирующего действия на эти показатели активности защитных функций организма.

**Материалы и методы исследования.** Работа выполнена на взрослых крысах-самцах породы Wistar массой 200–300 г. Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. Все эксперименты непосредственно с животными проводились в одно и то же время.

В качестве модели механической травмы головного мозга использовали модель «падающего груза»: груз массой 70 г падал с высоты 100 см в центр теменной части головы животного. Падение груза направлялось при помощи цилиндрической трубы с внутренним диаметром 20 мм, которая была жестко закреплена на штативе двумя держателями и центрирована над головой крысы. Расстояние между концом трубы и головой животного составляло порядка 7 см. Перед нанесением травмы животные получали ингаляционный наркоз  $\text{CO}_2$ . После нанесения травмы животных переносили в специальную пластиковую клетку, и за ними велось наблюдение вплоть до восстановления нормальных поведенческих паттернов. За это время у крыс наблюдались асфиксия, судороги, кровотечения и т. д. Через 30–40 мин после нанесения травмы животные возвращались к нормальному режиму жизни и питания.

Через 2 часа после нанесения травмы, а затем на 2-е, 3-и и 4-е сутки крысам вводили внутрибрюшинно Деринат в дозе 10 мг/кг массы в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида (весь курс — 4

инъекции). Контрольным животным ежедневно вводили изотонический раствор натрия хлорида в том же объеме.

Цитотоксическую активность спленоцитов крыс — естественных киллерных (ЕК) клеток селезенки, оценивали по их способности лизировать клетки эритромиелозея человека К-562 (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург), которые метили  $^3\text{H}$ -уридином (В/О «Изотоп», Россия). Реакцию между этими клетками после их инкубации в течение 20 ч в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  и 100% влажности учитывали по уровню  $^3\text{H}$ -уридина в нелизированных клетках-мишенях. Цитотоксическую активность ЕК клеток селезенки в процентах рассчитывали по формуле:

$$\text{Цитотоксичность} = \frac{1 - \frac{\text{Среднее число импульсов (с. р. т) в тест-ячейке}}{100\%}}{\frac{\text{Среднее число импульсов (с. р. т) в контроле}}{100\%}} \times$$

Пролиферативную активность спленоцитов определяли по изменению интенсивности реакции бласттрансформации спленоцитов (РБТС). Для этого суспензию спленоцитов в дозе  $2,5 \times 10^6$  кл./мл культивировали в течение 72 ч в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе при  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  и 100% влажности с добавлением Конканавалина А (Con A), 0,75 мкг/мл, Sigma) и препарата рекомбинантного IL-1 $\beta$  (rIL-1 $\beta$ ) со специфической активностью  $1,0 \times 10^7$  ед./мг белка в дозе 250 нг/мл. Интенсивность РБТС оценивали по уровню включения в ДНК делящихся клеток  $^3\text{H}$ -тимидина (ГИПХ, Санкт-Петербург), внесенного в суспензию спленоцитов в дозе 5 мкКи/мл.

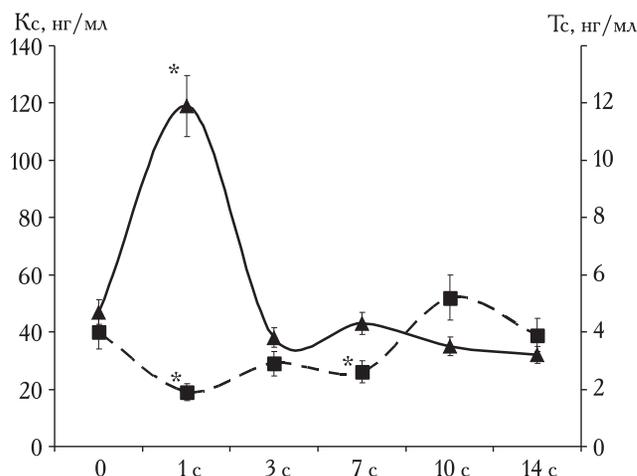
Содержание гормонов и цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных измеряли иммуноферментными методами с использованием ELISA kit фирмы DRG Diagnostic (Германия) и R&D Systems (USA) через 24 часа, на 3-й, 7-й, 10-й и 14-й день после нанесения ЧМТ.

Анализ уровня экспрессии генов цитокинов (ИЛ-1 и ИЛ-10) в клетках гипоталамуса крыс и ростовых факторов, вырабатываемых микроглией мозга: гена глиального нейротрофического фактора (GDNF), способствующего выживаемости нейронов, экспрессии гена фактора роста нервов (NGF) и P2X4, являющегося пуринергическим рецептором АТФ, осуществлялся методами ПЦР в режиме реального времени и иммуногистохимии. Уровень экспрессии исследуемых генов определяли относительно уровня экспрессии «house-keeping» гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Статистический анализ проведен с использованием t-критерия Стьюдента [16].

## Результаты исследования и их обсуждение.

**1. Концентрация кортикостерона и тестостерона в сыворотке крови крыс после ЧМТ.** Определение концентрации гормонов в сыворотке крови животных проведено до и после нанесения травмы через 24 ч, на 3-, 7-, 10-, 14-й дни. Показано, что уровень кортикостерона (Кс) в крови животных обеих групп с ЧМТ в течение первых 24 часов повышен в 2–2,5 раза, что свидетельствует о развитии у животных выраженной стрессорной реакции. Уже к 3-м суткам и в течение последующих 14 суток у животных контрольной группы, которым после нанесения травмы вводили физиологический раствор, уровень Кс снижался и колебался в пределах значений этого показателя у интактных животных (рис. 1).

Концентрация тестостерона (Тс) в сыворотке крови у животных контрольной группы снижалась более чем в 2 раза в течение первых суток после



**Рис. 1.** Уровень кортикостерона (Кс) и тестостерона (Тс) в крови животных после нанесения ЧМТ. По оси абсцисс — время в сутках после ЧМТ; по оси ординат: слева — концентрация кортикостерона, нг/мл (▲), справа — концентрация тестостерона, нг/мл (■). \*  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем гормонов у интактных животных.

нанесения травмы по сравнению с уровнем гормона у интактных крыс, что отражает типичное изменение гормональной реакции на стрессорное воздействие [17]. Лишь к 10–14-м суткам после нанесения ЧМТ концентрация Тс в крови у животных контрольной группы не отличалась от нормы (см. рис. 1).

Таким образом, в ранние сроки после ЧМТ изменение гормональных реакций носит стрессорный характер (повышение уровня кортикостерона и снижение концентрации тестостерона), в последующие сроки содержание гормонов в крови животных постепенно, к 10–14 дням, восстанавливается до базальных значений.

**2. Цитотоксическая активность ЕК-клеток селезенки и пролиферативная активность спленоцитов**

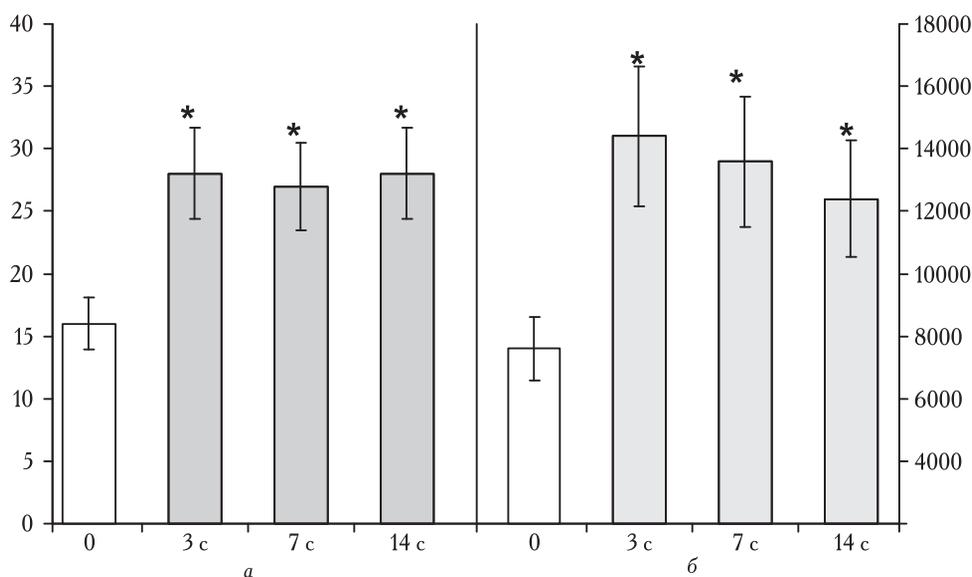
**крыс после ЧМТ.** Цитотоксическая активность ЕК-клеток селезенки — первого и важнейшего барьера на пути развития вирусиндуцированных и опухолевых процессов — возрастала на 3-й день после нанесения травмы и оставалась повышенной в течение 14-дневного периода наблюдения (рис. 2, а).

Сходные данные получены при анализе изменений пролиферативной активности спленоцитов, определяющей интенсивность развития иммунного ответа. После нанесения травмы в течение всего периода регистрации наблюдалось повышение интенсивности пролиферации у травмированных животных в ответ на сочетанное действие IL-1 $\beta$  и Кон А в (рис. 2, б). Лишь на 14-й день после ЧМТ пролиферативная активность спленоцитов снижалась до значений, характерных для животных контрольной группы, не достигая, однако, уровня характерного для интактных животных.

Таким образом, у животных, перенесших тяжелую механическую ЧМТ, развиваются дисфункции

имущественно клеточный или гуморальный вариант иммунного ответа. Клеточный иммунный ответ контролируется Th1-цитокинами (ИЛ-2, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ ), а гуморальный иммунный ответ — Th2-цитокинами (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10). Одним из основных регуляторов клеточного иммунного ответа является ИЛ-12, который ускоряет пролиферацию активированных ЕК-клеток и Т-клеток и стимулирует продукцию ИФН- $\gamma$  этими клетками, а продукцию противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) подавляет. В настоящее время показано, что под влиянием дестабилизирующих факторов (стресс, травма) баланс цитокинов Th1/Th2 сдвигается в пользу продукции Th2-цитокинов, что может привести к развитию различных заболеваний [19].

Согласно современным представлениям цитокины играют существенную роль в патогенезе ЧМТ. Повышение концентрации некоторых цитокинов у пациентов с ЧМТ (ИЛ-6, ИЛ-10) коррелирует с выраженными воспалительными изменениями



**Рис. 2.** Цитотоксическая (а) и пролиферативная (б) активность спленоцитов крыс после нанесения ЧМТ. По оси абсцисс — время в сутках после ЧМТ; по оси ординат (а) цитотоксическая активность НК клеток селезенки, %, (б) пролиферативная активность спленоцитов, в имп/мин. Группы животных: □ — интактные; ■ — после ЧМТ.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с уровнем активности спленоцитов у интактных животных.

иммунной системы, что выражается в длительной стимуляции клеток иммунной системы, которая наблюдается в течение всего срока наблюдения (14 суток), и как цитотоксическая, так и пролиферативная активности спленоцитов не восстанавливаются до значений интактных животных, что согласуется с ранее полученными данными [18].

**3. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс после ЧМТ.** Известно, что цитокины играют ведущую роль в регуляции функций иммунокомпетентных клеток, в том числе и в переключении на пре-

в головном мозге, сочетающимися с повышенной проницаемостью гематоэнцефалического барьера, характерной для тяжелых форм ЧМТ, что является неблагоприятным прогностическим признаком относительно исхода любой травмы [3, 5].

В работе исследованы особенности изменения концентрации цитокинов ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови крыс в норме и после ЧМТ (табл. 1).

Как видно из табл. 1, на 3-и сутки после ЧМТ происходит повышение концентрации провоспали-

тельного цитокина ИЛ-6 и ИЛ-10 — одного из основных противовоспалительных Th2-цитокинов ( $p < 0,05$ ). Полученные данные согласуются с данными клинических наблюдений содержания цитокинов у пациентов с ЧМТ.

**гипоталамуса крыс после ЧМТ.** При изучении клеточно-молекулярных механизмов нарушений защитных функций организма после ЧМТ информационно-значимым является исследование экспрессии генов про- (ИЛ-1) и противовоспалительных

Таблица 1

**Содержание цитокинов в крови животных контрольной группы после ЧМТ и введения изотонического раствора натрия хлорида**

Цитокины	Концентрация цитокинов в крови, пг/мл				
	интактные животные	животные после ЧМТ			
		3-и сутки	7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки
ИЛ-6	129±19,8	218±32*	185±29,6	209±50	108±21
ИЛ-10	148±24,0	185±25*	156±33	200±50	138±21
ИЛ-12	1395±114	1804±114	1521±204	1441±187	1457±198
ИНФ- $\gamma$	94,5±14,1	102±16	100±15	139±21	98±17

\* $p < 0,05$  по сравнению с уровнем цитокинов у интактных (нетравмированных) крыс.

Показано, что концентрация ИЛ-6 и ИЛ-10 в периферической крови пациентов увеличивается в первую неделю после травмы. К 3-й неделе эти показатели значительно возрастают в группе пациентов с неблагоприятным исходом, но имеют тенденцию к снижению у выздоравливающих больных [3]. Значительных изменений концентраций других исследованных цитокинов в крови животных с ЧМТ не наблюдается.

По мнению ряда исследователей [5, 12], при ЧМТ имеет значение не только абсолютное содержание цитокинов в крови, но и соотношение их концентраций, в частности ИЛ-10/ИЛ-6. Показано, что соотношение концентраций ИЛ-10/ИЛ-6 у интактных животных составляет 1,15, тогда как после ЧМТ у травмированных животных это соотношение снижается до 0,85 на 3-и сутки, до 0,84 на 7-е и до 0,95 на 10-е сутки, а к 14-м суткам достигает нормы 1,27, т. е. в первые сутки после ЧМТ преобладает продукция ИЛ-6, а к 14-м суткам соотношение нормализуется. Считается, что длительное повышение уровня цитокинов, поддерживающих воспалительный процесс на системном уровне, обладает негативным влиянием и ухудшает прогноз течения посттравматического периода и коррелирует с увеличением риска развития сепсиса и полиорганной недостаточности [5].

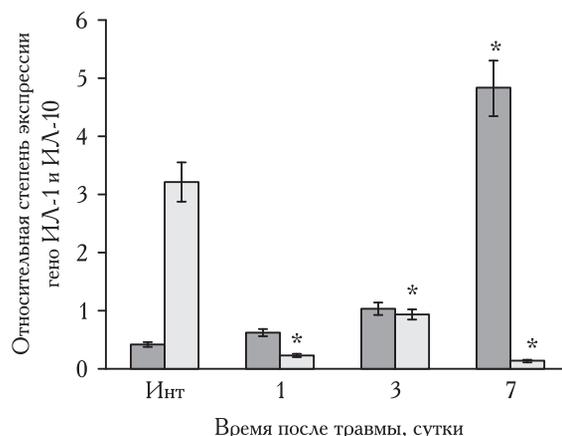
Таким образом, полученные данные позволяют проводить направленный поиск средств, способных индуцировать восстановление баланса цитокинов, нарушающегося после ЧМТ.

#### 4. Экспрессия генов цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-10, глиальных ростовых факторов в клетках

(ИЛ-10) цитокинов и экспрессии генов глиальных ростовых факторов, отражающей степень активности клеток микроглии мозга после ЧМТ.

Показано, что уровень экспрессии гена ИЛ-1 в гипоталамусе крыс не изменяется на 1–3-и сутки после нанесения ЧМТ и введения изотонического раствора натрия хлорида, но к 7-м суткам резко возрастает по сравнению с тем же показателем у интактных животных (рис. 3).

Экспрессия гена ИЛ-10 у травмированных животных, которым вводили изотонический раствор



**Рис. 3.** Относительная экспрессия генов ИЛ-1 и ИЛ-10 в разные сроки после ЧМТ. Темный столбик — степень экспрессии генов ИЛ-1, светлый столбик — степень экспрессии генов ИЛ-10.

\* $p < 0,05$  в сравнении с относительной степенью экспрессии генов у нетравмированных животных, соответственно.

натрия хлорида, снижалась даже ниже ее уровня у интактных крыс уже через 1 сутки после нанесения

травмы и сохранялась на низком уровне в течение всего периода наблюдения (7 дней).

Таким образом, экспрессия генов ИЛ-1 и ИЛ-10 в клетках гипоталамуса крыс при ЧМТ изменяется в противоположных направлениях со сдвигом баланса цитокинов в сторону ИЛ-1.

Анализ экспрессии генов некоторых ростовых факторов (GDNF, NGF, P2X4) в гипоталамусе головного мозга крыс проводили на разные сроки после ЧМТ методами ПЦР и иммуногистохимии. Согласно современным представлениям указанные ростовые факторы, как и некоторые про- и противовоспалительные цитокины, вырабатываются активированными после ЧМТ клетками микроглии мозга, которые наряду с астроцитами, периваскулярными макрофагами и дендритными клетками, ассоциированными с ГЭБ, выполняют функции иммунной системы мозга [2]. Клетки микроглии экспрессируют большое количество разнообразных рецепторов, в том числе пуриnergических, отличающиеся аффинностью к нуклеотидам [20].

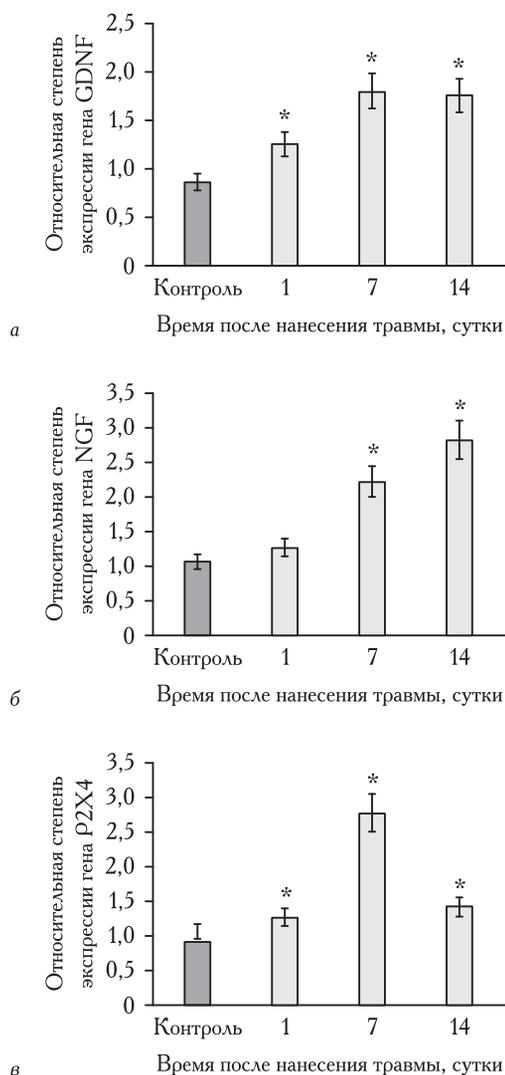
Исследовали экспрессию генов глиальных ростовых факторов: GDNF, NGF, P2X4 (рис. 4). Как следует из рис. 4, степень экспрессии генов глиальных ростовых факторов после ЧМТ возрастает: нейротрофического фактора (GDNF), способствующего выживаемости нейронов в гипоталамусе крыс, — на 1-й, 7-й и 14-й дни после ЧМТ (см. рис. 4, а), фактора роста нервов NGF — на 7-й и 14-й дни после травмы (см. рис. 4, б), P2X4 — на 7-й день (см. рис. 4, в). P2X4 является пуриnergическим рецептором АТФ, вовлечен в регуляцию клеточной гибели и может служить одним из рецепторов, опосредующих воспалительный процесс в мозге при ЧМТ [2].

Изменение экспрессии генов глиальных ростовых факторов после ЧМТ свидетельствует об активации клеток микроглии, которые осуществляют защитные реакции, в том числе фагоцитоз разрушенных после ЧМТ клеток и синтез цитокинов и ростовых факторов, что направлено на преодоление воспалительного процесса и восстановление тканей мозга [2].

Анализ полученных данных позволяет заключить, что изменения уровня экспрессии генов некоторых цитокинов и ростовых факторов в клетках гипоталамуса мозга являются информативными показателями развития нарушений защитных функций организма при ЧМТ.

**5. Изменение защитных реакций после введения Дерината животным, перенесшим ЧМТ.** В проведенном исследовании после нанесения ЧМТ было выявлено изменение специфических и неспецифических защитных функций организма на системном и клеточно-молекулярном уровнях, что

свидетельствует о значительной активации, а затем и нарушении функций иммунной системы у животных после ЧМТ. Анализ этих изменений показал, что некоторые защитные реакции восстанавливаются в течение периода наблюдения (14 дней), другие — нет. Поиск терапии ЧМТ, в том числе нарушений защитных функций организма, является существенной задачей современной медицины. В целях коррекции выявленных нарушений исполь-



**Рис. 4.** Относительная степень экспрессии генов глиальных ростовых факторов: а — GDNF; б — NGF; в — P2X4 на разные сроки после нанесения ЧМТ.

\*  $p < 0,05$  в сравнении с относительной степенью экспрессии генов у нетравмированных животных.

зовали препарат нуклеотидной природы — Деринат, который начинали вводить животным уже через 2 часа после нанесения ЧМТ и продолжали в течение последующих 3 дней (4-дневный курс лечения).

Внутрибрюшинное введение Дерината приводило к нормализации практически всех исследованных

защитных реакций. В табл. 2 приведены сводные данные о действии Дерината на эти показатели.

Из табл. 2 видно, что и цитотоксическая, и пролиферативная активность клеток иммунной системы,

и глиальных ростовых факторов в клетках гипоталамуса мозга являются информативными показателями развития нарушений защитных функций организма при ЧМТ и могут быть скорректированы после 4-дневно-

Таблица 2

**Изменения показателей защитных функций организма животных после нанесения ЧМТ и введения Дерината**

Показатель	Изменение показателей защитных реакций					
	животные после ЧМТ	животные после ЧМТ и введения Дерината, сутки				
		1-е	3-и	7-е	10-е	14-е
Цитотоксическая активность	↑					N↓
Пролиферативная активность	↑					N↓
Содержание цитокинов ИЛ-6, ИЛ-10	↑		N↓			
Экспрессия гена ИЛ-1	↑		N↑	N↓		
Экспрессия гена ИЛ-10	↓		N↑	N↑		
Экспрессия генов ростовых факторов: GDNF	↑	N↓		N↓		N↓
NGF	↑			N↓		N↓
Р2Х4	↑			N↓		N↓
Кортикостерон	↑		N			N
Тестостерон	↓	N↑		N	N	N

N — норма (величина у интактных животных).

значительно возросшие у травмированных животных, под влиянием Дерината нормализуются только к 14-м суткам, т. е. курсовое введение Дерината предотвращает длительную излишнюю стимуляцию клеток иммунной системы, что согласуется с ранее полученными данными [18]. В то же время содержание цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-10, повышенное у животных после ЧМТ, нормализуется (снижается) уже к 3-м суткам.

Введение Дерината животным приводит к усилению экспрессии генов цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-10 на 3-й день после ЧМТ, а на 7-й день меняет вектор изменения уровня экспрессии генов этих цитокинов: экспрессия гена ИЛ-1 снижается до базального уровня, а экспрессия гена ИЛ-10 повышается, но также до базальных значений. То есть при введении Дерината травмированным животным нормализуется экспрессия как гена ИЛ-1, так и гена ИЛ-10 в клетках гипоталамуса крыс к 7-м суткам после нанесения травмы.

Экспрессия генов глиальных ростовых факторов, повышенная у животных после ЧМТ, после введения Дерината восстанавливается, в основном к 7–14-м суткам до уровня этих показателей у животных контрольной группы. Нормализация гормональных реакций после введения Дерината происходит с 1-го по 14-й день.

Анализ полученных данных позволяет заключить, что изменение уровня экспрессии генов цитокинов

го курса лечения препаратом Деринат, как иммуномодулирующим препаратом нуклеотидной природы. Известно, что при введении Дерината усиливается активация клеток моноцитарно-макрофагальной системы и увеличивается выделение ими цитокинов (ИЛ-1, -4, -6, TNF- $\alpha$  и др.). По мнению авторов [14], в условиях дестабилизирующих ситуаций происходит интенсивное поглощение нативной ДНК активно пролиферирующими клетками костного мозга, лимфоузлов, эпителия тонкого кишечника, селезенки, в которых активируется метаболизм клеток, синтез РНК и ДНК и продукция различных внутриклеточных белков, что, по-видимому, способствует проявлению иммуномодулирующих свойств Дерината. Согласно современным представлениям нуклеотиды участвуют в процессах регуляции различных функций организма, осуществляя действие через пуриnergические рецепторы Р2, экспрессированные на поверхности различных клеток, в том числе клеток иммунной и нервной систем [15], чем, по-видимому, и обусловлен терапевтический эффект Дерината после ЧМТ.

**Выводы.** Проведенное исследование показало, что ЧМТ вызывает у животных развитие комплекса нарушений защитных реакций на системном и клеточно-молекулярном уровнях: нежелательное длительное повышение цитотоксической и пролиферативной активности спленоцитов, стрессобуслов-

ленное изменение концентрации гормонов и цитокинов в крови, повышение уровня экспрессии генов цитокинов и ростовых факторов в клетках мозга, которые являются информативными показателями

развития нарушений защитных функций организма после ЧМТ. Нормализация этих показателей происходит после лечения препаратом нуклеотидной природы Деринат.

### Литература

1. McAllister T. W. Neurobiological consequences of traumatic brain injury // *Dialogues Clin. Neurosci.* — 2011. — Vol. 13, № 3. — P. 287–300.
2. Дмитриенко Е. В., Акимото Н., Наое С., Нода М., Рыбакина Е. Г., Корнева Е. А. Иммунная система мозга и черепно-мозговая травма: попытка коррекции // *Медицинский академический журнал.* — 2013. — Т. 13, № 4. — С. 7–18.
3. Шевченко К. В., Четвертных В. А., Кравцов Ю. И. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме // *Иммунология.* — 2009. — Т. 30, № 3. — С. 180–184.
4. Рыбакина Е. Г., Шанин С. Н., Фомичева Е. Е., Козинец И. А., Корнева Е. А. Активность защитных функций организма при стрессе и их коррекция препаратом деринат // *Медицинская иммунология.* — 2008. — Т. 10, № 4–5. — С. 431–438.
5. Малышев М. Е., Пивоварова Л. П., Осипова И. В., Арискина О. Б., Хабирова Т. Г., Ильина В. А. Прогностическое значение содержания ИЛ-6, ИЛ-10 и раИЛ-1 для диагностики развития сепсиса и тяжелого сепсиса у пациентов с сочетанной травмой // *Скорая медицинская помощь.* — 2014. — № 2. — С. 65–68.
6. O'Connor W. T., Smyth A., Gilchrist M. D. Animal models of traumatic brain injury: A critical evaluation // *Pharmacology & Therapeutics.* — 2011. — Vol. 130, № 2. — P. 106–113.
7. Albert-Weissenberger C., Sirén A. Experimental traumatic brain injury // *Exp. Transl. Stroke Med.* — 2010. — Vol. 2, N 1. — P. 16.
8. Blaha M., Schwab J., Vajnerova O., Bednar M., Vajner L., Michal T. Intracranial pressure and experimental model of diffuse brain injury in rats // *J. Korean. Neurosurg. Soc.* — 2010. — Vol. 47, № 1. — P. 7–10.
9. Marklund N., Hillered L. Animal modelling of traumatic brain injury in preclinical drug development: where do we go from here? // *Br. J. Pharmacol.* — 2011. — Vol. 64, № 4. — P. 1207–1229.
10. Cernak I. Animal models of head trauma // *NeuroRx.* — 2005. — Vol. 2, № 3. — P. 410–422.
11. Potts M. B., Adwanikar H., Noble-Haesslein L. J. Models of traumatic cerebellar injury // *Cerebellum.* — 2009. — Vol. 8, № 3. — P. 211–221.
12. Рыбакина Е. Г., Шанин С. Н., Козинец И. А., Дмитриенко Е. В. Коррекция функций иммунной системы препаратом «Деринат» после экспериментальной черепно-мозговой травмы // *Terra Medica.* — 2011. — Т. 2. — С. 31–34.
13. Фомичева Е. Е., Шанин С. Н., Филатенкова Т. А., Рыбакина Е. Г. Стресс-индуцированные изменения функциональной активности нейроэндокринной системы: модулирующее действие препарата Деринат // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* — 2009. — Т. 95, № 3. — С. 290–296.
14. Каплина Э. Н., Вайнберг Ю. П. Деринат — природный иммуномодулятор для детей и взрослых. — М.: Науч. книга, 2005.
15. Серебряная Н. Б. Нуклеотиды как регуляторы иммунного ответа // *Иммунология.* — 2010. — № 5. — С. 273–281.
16. Стрелков Р. Б. Метод вычисления стандартной ошибки и доверительных интервалов средней арифметической с помощью таблиц. — Сухуми: Алашара, 1966. — 56 с.
17. Пиенникова М. Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // *Патол. физиолог. и эксперим. терапия.* — 2000. — № 2. — С. 24–31.
18. Rybakina E. G., Shanin S. N., Fomicheva E. E. et al. Correction of stress-induced disfunctions of the immune and neuroendocrine systems by peptide and nucleotide preparations // *Advances in Neuroimmune Biology.* — 2012. — Vol. 3. — P. 353–360.
19. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. — СПб: Фолиант, 2008. — 552 с.
20. Loane D. J., Byrnes K. R. Role of microglia in neurotrauma // *Neurotherapeutic.* — 2010. — Vol. 7, № 4. — P. 366–377.

Поступила в редакцию: 8.12.2014 г.

Контакт: Фомичева Елена Евгеньевна, eefomicheva@rambler.ru

### Сведения об авторах:

Рыбакина Елена Георгиевна — заведующая лабораторией, доктор биологических наук, ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 9а, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: v.n.rybakin@gmail.com, тел.: (812) 234-15-83

Шанин Сергей Николаевич — старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук, ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 9а, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: shanins@yandex.ru, тел.: (812) 234-15-83

Фомичева Елена Евгеньевна — старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 9а, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: eefomicheva@rambler.ru, тел.: (812) 234-15-83

Филатенкова Татьяна Александровна — младший научный сотрудник, аспирантка ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 9а, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lero269@gmail.com, тел.: (812) 234-15-83

Дмитриенко Елена Викторовна — научный сотрудник ФГБУ НИИЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 9а, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: elenadmit@gmail.com

УДК 616-092.19

## ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ СТРЕСС-РЕАКЦИИ У КРЫС ПРИ СТРЕССИРУЮЩЕМ ВОЗДЕЙСТВИИ И ВВЕДЕНИИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ДЕФЕНСИНА RATNP-3

*И. А. Янкевич, Г. М. Алешина, В. Н. Кокряков*

Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

## SOME FEATURES OF THE STRESS REACTION IN RATS AFTER EXPOSURE TO STRESS AND ADMINISTRATION OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE DEFENSIN RATNP-3

*I. A. Yankelevich, G. M. Aleshina, V. N. Kokryakov*

Institute of Experimental Medicine of the North-West Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg

© Коллектив авторов, 2014 г.

Исследована динамика концентрации кортикостерона и перераспределения лейкоцитов в крови крыс при стрессирующем воздействии и введении антимикробного пептида дефенсина RatNP-3. В качестве экспериментальной модели стресса использовали комбинированный эмоционально-физиологический стресс — плавание в холодной воде (2–4°С) в течение 2 минут. Концентрацию кортикостерона оценивали методом иммуноферментного анализа, количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу определяли по мазку крови. Установлено, что введение дефенсина RatNP-3 непосредственно перед стрессирующим воздействием нормализует стресс-индуцированные изменения числа нейтрофильных гранулоцитов в крови и снижает индуцированное стрессом повышение концентрации кортикостерона в крови крыс. Результаты данного исследования позволяют сделать вывод о нормализующем (адаптогенном) действии дефенсина RatNP-3 на организм при экспериментальном стрессе у крыс.

**Ключевые слова:** нейроиммунные взаимодействия, врожденный иммунитет, стресс, дефенсины.

Dynamics of corticosterone concentration and redistribution of leukocytes in the blood of rats under stressful impact and administration of the antimicrobial peptide defensin RatNP-3 have been studied. The experimental model of stress — swimming in cold (2–4°С) water in 2 min. Plasma corticosterone levels were evaluated by IFA kit for corticosterone. The number of leukocytes was counted in Goryaev chamber and a manual WBC differential was performed using blood smears. It have been shown that administration of defensin RatNP-3 immediately before stressful impact have normalized stress-induced changes in the number of neutrophils in the blood, and reduces stress-induced increase of corticosterone concentration in the blood of rats. The results of this study results suggest that defensin can act as an adaptogen during experimental stress in rats.

**Key words:** neuroimmune interaction, innate immunity, stress, defensins.

**Введение.** В настоящее время не вызывает сомнения, что антимикробные пептиды (АМП) являются эволюционно отобранными молекулярными компонентами системы врожденного иммунитета — эндогенными пептидными антибиотиками, участвующими в неотложных реакциях противoinфекционной защиты животных и человека [1–3].

Одной из наиболее распространенных групп АМП у млекопитающих являются дефенсины. Дефенсины — это группа близкородственных коротких полипептидов, богатых цистеином и аргинином, в их состав входит от 29 до 45 аминокислотных остатков. Термин «дефенсины» отражает их основное функциональное назначение, а именно способность обеспечивать защиту макроорганизма

от возбудителей инфекционных заболеваний. Существует 4 семейства дефенсинов позвоночных:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\theta$ -дефенсины; отличительной структурной особенностью этих положительно заряженных молекул является наличие у них трех внутримолекулярных дисульфидных связей [4].

Исследованиями функциональной активности антимикробных пептидов в условиях животного организма было показано, что некоторые АМП млекопитающих (в частности, пептиды, содержащиеся в гранулах нейтрофилов) обладают рядом активностей, отличных от антибиотических [5].

Особый интерес представляют иммуномодулирующие свойства этих соединений как эндогенных регуляторов иммунного ответа. Одними из самых

распространенных воздействий, вызывающих изменения иммунного ответа, являются стрессорирующие, которые приводят к перераспределительным реакциям лейкоцитов крови, изменению продукции цитокинов и гормонального уровня [6, 7]. Несмотря на то, что нейтрофилез является давно известным и одним из классических проявлений стресс-реакции, биологический смысл этого явления остается до конца не ясным. Поиски ведутся преимущественно в направлении изучения стресс-индуцированных изменений функциональной активности этих клеток [8]. В то же время можно предположить, что те антимикробные белки и пептиды, которые секретируются из нейтрофилов, обладают не только антибиотическим действием, но и в соответствии с принципами регуляции физиологических реакций могут оказывать влияние на развитие стресс-реакции и иммунного ответа. Данных, подтверждающих это предположение в отношении дефензинов, пока немного. Так, установлено, что некоторые дефензины могут влиять на антителообразование и на уровень глюкокортикоидных гормонов в условиях экспериментального стресса у животных [9, 10].

Настоящая работа посвящена изучению особенностей развития стресс-реакции у лабораторных животных при введении — дефенсина RatNP-3, выделенного из нейтрофилов крысы.

#### **Материалы и методы исследования.**

**Экспериментальные животные.** Эксперименты выполнены на крысах-самцах гетерозиготного штамма линии Wistar массой 120–150 г, полученных из питомника «Рапполово» (Санкт-Петербург). Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных.

**Получение дефенсина RatNP-3.** Выделение дефенсина крысы RatNP-3 проводили по стандартной схеме, традиционно применяемой для выделения дефензинов [11]. Использовали комплекс методов, включающих экстракцию пептидов из лейкоцитов крысы в кислой среде, их фракционирование методами ультрафильтрации и обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Концентрацию пептидов в пробах определяли спектрофотометрическим методом.

**Экспериментальная модель.** В качестве экспериментальной модели стресса использовали комбинированный эмоционально-физический стресс — плавание в холодной воде (2–4 °С) в течение 2 минут. Данная модель ранее была апробирована в отделе общей патологии и патологической физио-

логии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН. Препарат RatNP-3 разводили в воде для инъекций и вводили животным внутрибрюшинно непосредственно перед стрессорирующим воздействием из расчета 100 мкг/кг массы тела в объеме 500 мкл. Доза дефенсина выбиралась с тем расчетом, чтобы конечная концентрация препарата не превышала концентрацию пептида, имеющую место при процессе адаптации организма животных к неблагоприятным воздействиям. Забор крови осуществляли через 30 минут и 3 часа после окончания стрессорирующего воздействия, после быстрой декапитации.

Препарат RatNP-3 не содержал примесей липосахаридов, оценку содержания эндотоксинов проводили с помощью Лимулюс-теста («Lonza», США).

**Определение концентрации кортикостерона.** Иммуноферментный анализ проводили на коммерческом наборе Corticosterone ELISA EIA-4164 фирмы DRG, согласно инструкции, приложенной к набору.

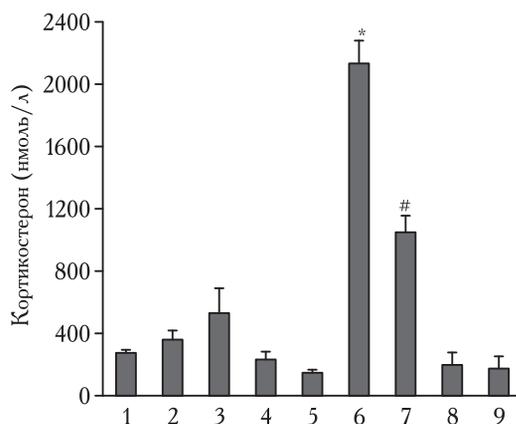
**Определение количества лейкоцитов.** Подсчет количества лейкоцитов осуществляли в камере Горяева. Подсчет лейкоцитарной формулы крови вели на мазке под микроскопом.

**Статистическая обработка результатов.** Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Достоверность различий между группами оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа по post-hoc t-критериям по методу Бонферрони.

**Результаты и их обсуждение.** В качестве модели экспериментального стресса нами был выбран эмоционально-физический стресс — плавание в течение 2 минут в холодной воде (2–4 °С). Ранее на данной модели стресса было показано, что тотальная фракция дефензинов крысы (RatNP-1 — RatNP-4) снижает стресс-стимулированное повышение уровня кортикостерона в плазме крови и отменяет стресс-индуцированную иммуносупрессию, т. е. снижение уровня антител, синтезированных в ответ на инъекцию эритроцитов барана. Установлено, что отмена дефенсинами стресс-индуцированной иммуносупрессии имеет место только в том случае, если введение пептидов проводить в определенные сроки — не ранее, чем за 10 минут до стресса или сразу после аппликации стрессорирующего воздействия (через 5 минут) [12]. Основываясь на этих данных, мы выбрали режим предварительного введения пептида RatNP-3 — за 2 минуты до стресса.

Использованный в настоящей работе стресс сопровождается классической глюкокортикоидной реакцией, а именно повышением уровня кортикостерона в крови крыс в течение получаса после стресси-

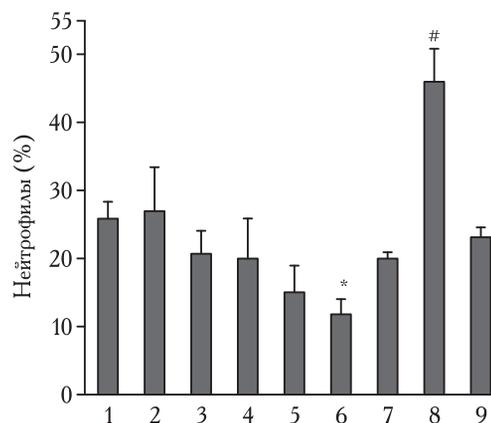
рующего воздействия. К третьему часу после стрессирующего воздействия происходит его возвращение к исходному уровню (рис. 1).



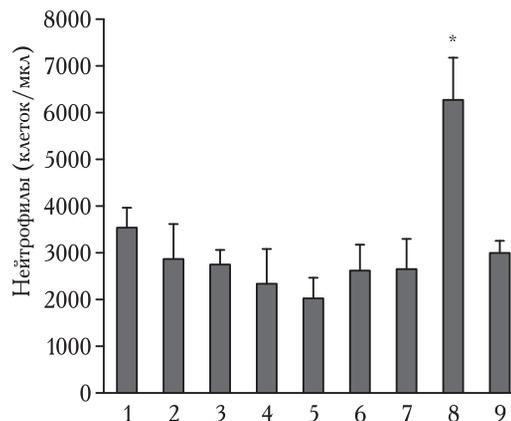
**Рис. 1.** Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс через 30 минут и 3 часа после введения RatNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. По оси абсцисс группы экспериментальных животных: 1 — интактные; 2 — через 30 мин после введения растворителя; 3 — через 30 мин после введения RatNP-3; 4 — через 3 часа после введения растворителя; 5 — через 3 часа после введения RatNP-3; 6 — через 30 мин после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 7 — через 30 мин после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия; 8 — через 3 часа после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 9 — через 3 часа после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. \* — отличается от всех групп; # — отличается от группы 1.  $p < 0,005$  по post-hoc t-критерию по методу Бонферрони.

Одной из стандартных реакций на стресс является повышение содержания нейтрофилов в крови [13]. В рамках нашей работы вопрос о физиологической значимости явления нейтрофилиза имеет особое значение, поскольку именно нейтрофильные гранулоциты (нейтрофилы) представляют собой основной источник изучаемых нами пептидных молекул в крови. В связи с этим нами были оценены динамика числа нейтрофилов в крови крыс в ходе реализации стресс-реакции и перераспределение лейкоцитарного состава крови.

На 30-й минуте после аппликации стрессирующего воздействия достоверно снижалось процентное содержание нейтрофилов в крови крыс по отношению к контролю, тогда как к 3 часам относительное количество нейтрофилов достоверно повышалось (рис. 2), причем через 3 часа достоверно увеличивалось и абсолютное содержание нейтрофилов в крови крыс (рис. 3). Полученные данные свидетельствуют о том, что в ходе реализации стресс-реакции после комбинированного эмоционально-физического воздействия идет активное перераспределение клеток в системе крови, мобилизуются лейкоцитарные резервы организма.



**Рис. 2.** Процентное содержание нейтрофилов в крови крыс через 30 минут и 3 часа после введения RatNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. По оси абсцисс группы экспериментальных животных: 1 — интактные; 2 — через 30 мин после введения растворителя; 3 — через 30 мин после введения RatNP-3; 4 — через 3 часа после введения растворителя; 5 — через 3 часа после введения RatNP-3; 6 — через 30 мин после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 7 — через 30 мин после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия; 8 — через 3 часа после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 9 — через 3 часа после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. \* — отличается от групп 1 и 7; # — отличается от групп 1 и 9.  $p < 0,005$  по post-hoc t-критерию по методу Бонферрони.



**Рис. 3.** Содержание нейтрофилов в крови крыс через 30 минут и 3 часа после введения RatNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. По оси абсцисс группы экспериментальных животных: 1 — интактные; 2 — через 30 мин после введения растворителя; 3 — через 30 мин после введения RatNP-3; 4 — через 3 часа после введения растворителя; 5 — через 3 часа после введения RatNP-3; 6 — через 30 мин после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 7 — через 30 мин после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия; 8 — через 3 часа после введения растворителя и аппликации стрессирующего воздействия; 9 — через 3 часа после введения RATNP-3 и аппликации стрессирующего воздействия. \* — отличается от всех групп.  $p < 0,005$  по post-hoc t-критерию по методу Бонферрони.

Известно, что перераспределение лейкоцитов является следствием изменения уровня стрессорных

гормонов, в первую очередь глюкокортикоидов и катехоламинов, хотя у различных видов это проявляется по-разному. Так, у человека и крысы эпинефрин (адреналин) вызывает мобилизацию нейтрофилов [14, 15], и в то же время он не влияет на мобилизацию нейтрофилов у собак [16].

Проведенное нами исследование показало, что парентерально введенный дефенсин крысы RatNP-3 в используемых концентрациях не влияет на базальный уровень кортикостерона в крови крыс через полчаса и 3 часа после введения (рис. 1). При этом введение RatNP-3 также не влияло на клеточный состав крови на сроках 30 минут и 3 часа после введения (см. рис. 2, 3).

Ранее канадскими исследователями было показано, что некоторые изоформы дефенсинов, названные ими кортикостатинами, в условиях культуры клеток оказывают тормозящее действие на АКТГ-индуцированный стероидогенез клетками коркового слоя надпочечников, конкурентно взаимодействуя с рецепторами АКТГ. Однако исследуемый нами дефенсин крысы RatNP-3, хотя и получил наименование кортикостатина 3, в этих опытах *in vitro* не проявлял заметной кортикостатической активности [17].

Мы впервые исследовали кортикостатическое действие RatNP-3 в условиях *in vivo* и показали, что введение дефенсина RatNP-3 достоверно снижало индуцированное стрессом повышение уровня кортикостерона в крови крыс через 30 минут после аппликации стресса (рис. 1). Полученные результаты позволяют предположить опосредованный механизм действия RatNP-3 на стероидогенез при стрессе (либо совместное действие с каким-либо эндогенным фактором, например, катехоламинами).

На данный момент не существует опубликованных работ, посвященных влиянию дефенсинов на клеточный состав крови. Нами впервые было показано, что введение дефенсина крысы влияет на перераспреде-

ние лейкоцитов в крови при экспериментальном стрессе. Установлено, что введение дефенсина RatNP-3 нормализует процентное содержание нейтрофилов в крови экспериментальных крыс на сроках 30 минут и 3 часа после аппликации стресса (см. рис. 2) и снижает индуцированное стрессом повышение общего числа нейтрофилов через 3 часа после стресса (см. рис. 3). На основании полученных данных можно предположить, что дефенсины, секретируемые нейтрофилами в кровь, включаются в формирование механизмов обратной связи, направленных на снижение числа циркулирующих нейтрофилов. Реализация данных механизмов может дополнительно осуществляться через регуляцию продукции катехоламинов симпатoadреналовой системой путем модулирования работы  $Ca^{2+}$  ионных каналов по аналогии с действием некоторых омега-конотоксинов [18], структура которых схожа со структурой дефенсинов — те и другие представляют собой цистинсодержащие катионные пептиды. В дополнение к этому дефенсины могут влиять на нейрогенные механизмы регуляции, воздействуя на медленные натриевые каналы нейронов [19].

**Выводы.** Продемонстрировано, что парентеральное введение дефенсина RatNP-3 непосредственно перед стрессирующим воздействием нормализует стресс-индуцированные изменения числа нейтрофильных гранулоцитов в крови. Впервые показано, что введение дефенсина RatNP-3 снижает индуцированное стрессом повышение концентрации кортикостерона в крови крыс, в то время как по данным литературы RatNP-3 не проявляет кортикостатическое действие в условиях *in vitro*.

Результаты данного исследования позволяют сделать вывод о нормализующем (адаптогенном) действии дефенсина RatNP-3 на организм при экспериментальном стрессе у крыс и рассматривать его в качестве медиаторной молекулы в нейроэндокринноиммунных взаимодействиях.

### Литература

1. Кокряков В. Н. Очерки о врожденном иммунитете. — СПб.: Наука, 2006. — 262 с.
2. Votaw H. C. Peptide antibiotics and their role in innate immunity // *Annu. Rev. Immunol.* — 1995. — Vol. 13. — P. 61–92.
3. Кокряков В. Н., Алешина Г. М., Шамова О. В. и др. Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета // *Медицинский академический журнал.* — 2010. — Т. 10. — С. 149–160.
4. Lehrer R. I. Evolution of antimicrobial peptides: a view from the cystine chapel // *Antimicrobial Peptides and Innate Immunity, Progress in Inflammation Research* / P. S. Hiemstra and S. A. J. Zaai (eds.) — Springer Basel, 2013. — P. 1–28.
5. Pleskach V. A., Aleshina G. M., Artsybasheva I. V. et al. Cytotoxic and mitogenic effect of antimicrobial peptides from neutrophils on cultured cells // *Цитология.* — 2000. — Т. 42, № 3. — С. 228–234.
6. Корнева Е. А., Шхинек Э. К. Гормоны и иммунная система. — Л.: Наука, 1988. — 251 с.
7. Webster J. I., Tonelli L., Sternberg E. M. Neuroendocrine regulation of immunity // *Annu. Rev. Immunol.* — 2002. — Vol. 20. — P. 125–163.
8. Khanfer R., Phillips A. C., Carroll D., Lord J. M. Altered human neutrophil function in response to acute psychological stress // *Psychosomatic Medicine.* — 2010. — Vol. 72. — P. 636–640.

9. Шамова О. В., Лесникова М. П., Кокряков В. Н. и др. Действие дефензинов на уровень кортикостерона в крови и иммунный ответ при стрессе // Бюлл. экспер. биол. и мед.— 1993.— Т. 115, № 6.— С. 646–649.
10. Cervini L. A., Gray W. R., Kaiser R. et al. Rat corticostatin R4: synthesis, disulfide bridge assignment, and in vivo activity // Peptides.— 1995.— Vol. 16.— P. 837–842.
11. Цветкова Е. В., Алешина Г. М., Шамова О. В. и др. Дефенсины из лейкоцитов крови обезьяны *Papio hamadryas* // Биохимия.— 2006.— Т. 71, вып. 8.— С. 1083–1090.
12. Орлов Д. С. Эффекты действия дефензинов при стрессе: автореф. дис. ... канд. биол. наук.— СПб., 1998.— 20 с.
13. Горизонтов П. Д. Стресс. Система крови в механизме гомеостаза. Стресс и болезни // Гомеостаз / Под ред. П. Д. Горизонтова.— М.: Медицина, 1981.— С. 538–570.
14. Davis J. M., Albert J. D., Tracy K. J. et al. Increased neutrophil mobilization and decreased chemotaxis during cortisol and epinephrine infusions // Journal of Trauma and Acute Care Surgery.— 1991.— Vol. 31.— P. 725–731.
15. Dhabhar F. S., Malarkey W. B., Neri E., McEwen B. S. Stress-induced redistribution of immune cells — from barracks to boulevards to battlefields: a tale of three hormones // Psychoneuroendocrinology.— 2012.— Vol. 37.— P. 1345–1368.
16. Parks K. R., Davis J. M. Epinephrine, cortisol, endotoxin, nutrition, and the neutrophil // Surg Infect (Larchmt).— 2012.— Vol. 13.— P. 300–306.
17. Solomon S. Corticostatins // Trends Endocrinol Metab.— 1993.— Vol. 4.— P. 260–264.
18. Terlau H., Olivera B. M. Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides // Physiol. Rev.— 2004.— Vol. 84.— P. 41–68.
19. Плахова В. Б., Рогачевский И. В., Щеголев Б. Ф. и др. Дефенсин NP-4 уменьшает потенциалочувствительность медленных натриевых каналов сенсорных нейронов // Сенсорные системы.— 2005.— Т. 19, № 2.— С. 123–131.

Поступила в редакцию 08.12.2014 г.

Контакт: Алешина Галина Матвеевна, galina\_aleshina@mail.ru

#### Сведения об авторах:

Янкевич Ирина Алексеевна — н. с., ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия. Тел.: (812) 234-07-64, e-mail: irinkab@bk.ru;

Алешина Галина Матвеевна — к. б. н., доц., с.н.с. ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия. Тел.: (812) 234-07-64, e-mail: galina\_aleshina@mail.ru;

Кокряков Владимир Николаевич — д. б. н., проф., зав. лаб. ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия. Тел.: (812) 234-07-64, e-mail: kokryak@yandex.ru.

### Глубокоуважаемые коллеги!

Оргкомитет имеет честь пригласить Вас на III Межрегиональный симпозиум «ВИЧ-медицина и фармакоэкономика», который состоится 19 февраля 2015 г. Оргкомитет: академик РАН Н. А. Беляков.

Место проведения: г. Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 43/1, гостиница «Азимут», Вход № 2, 18 этаж, (ст. метро «Балтийская»).

Информация о мероприятии размещена на сайте: [www.hiv-spb.ru](http://www.hiv-spb.ru)

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

УДК 616.831.541

**МИКРОГЛИЯ ЧЕРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА***Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик, Е. Г. Сухорукова, М. А. Сырцова*

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

**MICROGLIA OF THE HUMAN SUBSTANTIA NIGRA***D. E. Korzhevskii, O. V. Kirik, E. G. Sukhorukova, M. A. Syrszova*

Institute of Experimental Medicine of the North West Branch of the Russian Academy of Medical Science, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Работа посвящена изучению структуры и распределения клеток микроглии в черном веществе (главном дофаминергическом центре) головного мозга человека. Микроглиоциты выявляли с использованием иммуноцитохимической реакции на специфический микроглиальный маркер — белок Iba-1. Установлено, что микроглиоциты черного вещества относятся к наиболее распространенному во взрослом головном мозге типу рамнифицированной (ветвящейся) микроглии. Выявлено преобладание микроглиоцитов в ретикулярной части черного вещества по сравнению с его компактной частью. Обнаружена атипичная концентрация белка Iba-1 в ядрах микроглиоцитов и описаны различия в характере внутриядерной реакции на этот белок.

**Ключевые слова:** микроглия, черное вещество, человек, белок Iba-1, иммуноцитохимия.

The structure and distribution of microglial cells was studied in the human substantia nigra (the main dopaminergic center of the brain). Microgliaocytes were revealed using immunocytochemistry for the protein Iba1, the specific microglial marker. The found microgliaocytes in the substantia nigra belong to the ramified microglia, which is the most common in the adult brain. Predominant distribution of microgliaocytes was revealed in the reticular part of the substantia nigra in comparison with the compact part. Atypical concentration of the protein Iba1 was found in the nucleus of the microglial cells and a variety of the intranuclear immunocytochemical reaction is described.

**Key words:** microglia, substantia nigra, protein Iba1, immunocytochemistry.

**Введение.** Клетки микроглии — особая разновидность тканевых макрофагов, которые присутствуют в органах нервной системы и имеют мезенхимное происхождение [1, 2]. Микроглия закономерно считается ключевым элементом воспалительного процесса, развивающегося в нервной ткани в ответ на воздействия повреждающих факторов и проникновение возбудителей инфекций [3, 4]. Такая форма воспаления имеет особые характеристики и обозначается как нейровоспалительный процесс или нейровоспаление (neuroinflammation) [5, 6]. Последний вариант является транскрипцией английского термина и не совсем удачен для русскоязычных текстов.

Нейровоспалительный процесс с участием микроглии характерен для нейродегенеративных заболеваний [6]. Наиболее активно изучается роль микроглии в развитии болезни Альцгеймера [7, 8]. Менее известна ее роль при развитии болезни Паркинсона, затрагивающей черное вещество головного мозга, в котором по мере прогрессирования заболевания происходит дегенерация дофаминергических нейронов. При изучении нейродегенерации дофаминергических нервных центров в эксперименте возникает вопрос

о сопоставимости наблюдаемых у лабораторных животных клеточных реакций со структурными изменениями, происходящими в черном веществе головного мозга человека при старении и нейродегенерации. Для того чтобы правильно ответить на поставленный вопрос, необходимо иметь детальные данные об организации микроглии черного вещества у человека при отсутствии нейродегенеративного процесса.

Настоящее исследование выполнено с целью получения сведений о структурной организации микроглии черного вещества головного мозга человека, необходимых для сравнительной характеристики изменений, происходящих в этом дофаминергическом нервном центре при развитии нейродегенеративного процесса.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на 10 объектах — фрагментах головного мозга человека (25–78 лет) из архива лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Института экспериментальной медицины. Программа исследований имеет положительное заключение локального этического комитета ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН. Исследованный материал был фиксирован

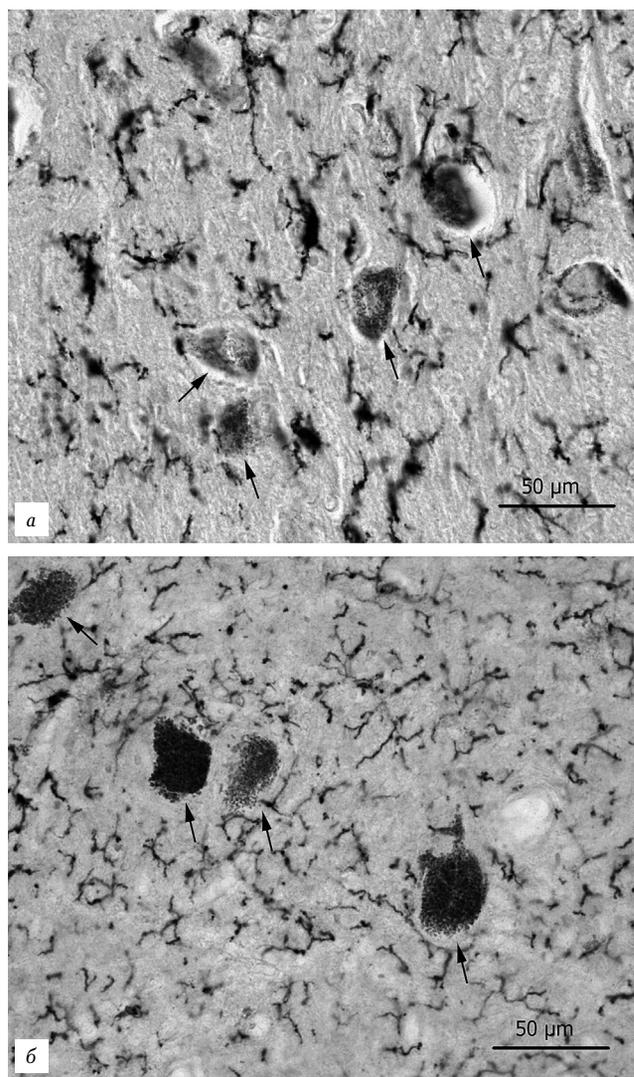
в цинк-этанол-формальдегиде, который хорошо зарекомендовал себя как универсальный фиксатор для иммуноцитохимических исследований [9–12]. После фиксации материал был обезвожен и залит в парафин по общепринятой методике. Из архивных блоков готовили срезы толщиной 10 мкм на санном микротоме Leica SM2000R (Leica, Германия) и наклеивали их на стекла с фабричным адгезивным покрытием HistoBond (Marienfeld, Германия). После стандартной процедуры депарафинирования и регидратации, проводили тепловое демаскирование антигена в специальном буфере (БиоВитрум, Россия). Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы инкубировали в 3% растворе перекиси водорода, а для блокирования неспецифических сайтов связывания антигена — в блокировочном растворе («Protein Block», Spring Bioscience, США). Клетки микроглии выявляли при помощи поликлональных козьих антител к белку Iba-1 (разведение 1:200, AbCam, Великобритания). Для выявления комплекса антиген-антитело для световой микроскопии применяли вторичные антикозьи биотинилированные антитела (разведение 1:200, номер по каталогу E0466, Dako, Дания) и стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой (Spring Bioscience, США). Для визуализации продукта иммуноцитохимической реакции при световой микроскопии использовали хромоген DAB+ (Dako, Дания). Препараты исследовали под микроскопом Leica DM750, фотосъемку выполняли с помощью фотокамеры ICC50 (Leica, Германия).

**Результаты и их обсуждение.** Изучение полученных препаратов показало, что во всех исследованных случаях селективно выявились отростчатые клетки, имеющие морфологические признаки микроглиоцитов. У клеток микроглии имелись многочисленные по-разному ветвящиеся отростки. Кроме типичных микроглиоцитов, в препаратах присутствовали единичные удлинённые и овальные иммунопозитивные клетки, которые располагались периваскулярно.

При изучении различных компартментов черного вещества было обнаружено преобладание микроглии в ретикулярной его части (*pars reticulata*), тогда как в компактной части (*pars compacta*) клеток микроглии наблюдалось меньше. Отчетливая возрастная связь в характере распределения микроглии в различных участках черного вещества отсутствовала, однако в компактной части черного вещества у лиц старших возрастных групп микроглиоциты имели более сложную организацию отростков. Вокруг дофаминергических нейронов, которые можно было легко идентифицировать по присутствию нейромеланина (рис. 1), часто можно было наблюдать группировку отростков микроглиоцитов, причем эта осо-

бенность была более характерна для лиц старшего возраста.

В ходе исследования обнаружено, что микроглиоциты черного вещества головного мозга человека различаются не только по расположению, характеру ветвления отростков, но и по содержанию белка Iba-1 в ядре клетки. Ранее при проведении исследований микроглии головного мозга лабораторных животных [13–18] создавалось впечатление, что иммуноцитохимически выявляемый белок Iba-1, распределенный в перинуклеарной цитоплазме,



**Рис. 1.** Общий вид Iba-1 иммунопозитивных клеточных элементов в компактной части черного вещества головного мозга человека: а — мужчина 25 лет; б — женщина 78 лет. Стрелками указаны скопления нейромеланина в цитоплазме дофаминергических нейронов. Сами нейроны не видны. Окраска: иммуноцитохимическая реакция на белок Iba-1 без подкраски. Масштабный отрезок равен 50 мкм.

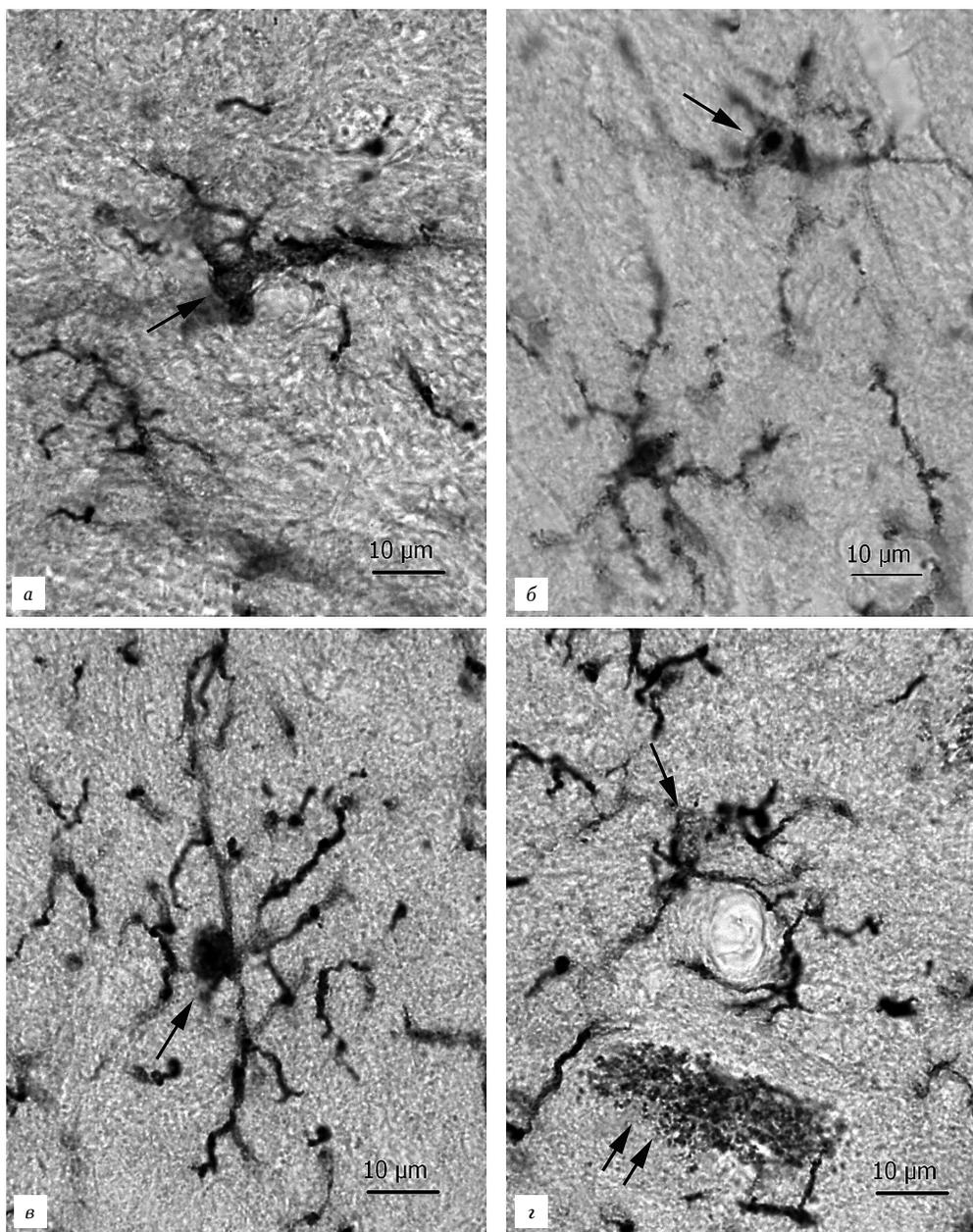
экранирует ядро и оно остается недоступным для наблюдения при обычной световой микроскопии. У человека наблюдается меньшая концентрация Iba-1 в перинуклеарной зоне. Обычно более интен-

сивно окрашиваются отростки, поэтому ядро клетки становится доступным для изучения.

Было выявлено четыре формы клеток микроглии, которые различались по характеру внутриядерной реакции на белок Iba-1 (рис. 2). Это клетки, содержащие в ядре равномерно распределенный белок Iba-1, причем интенсивность реакции ядра не превышала интенсивности реакции в отходящих от клетки отростках (см. рис. 2, а). Нередко встречались клетки с иммунонегативной кариоплазмой и интенсивно окрашенной гранулой, имеющей центральное расположение. Иногда таких гранул встречалось несколько (см. рис. 2, б). Достаточно редко наблюдались клет-

ки с интенсивно окрашенным ядром, внутренняя структура которого была неразличима (см. рис. 2, в). Встречались и клетки, в которых ядро было окрашено очень слабо и угадывалось только благодаря отходящим от перинуклеарной области иммунопозитивным отросткам (см. рис. 2, г).

В настоящем исследовании были получены новые данные о микроглии черного вещества головного мозга человека. Первая группа данных относится к клеточным типам, выявляемым при проведении иммуноцитохимической реакции на белок Iba-1. Это отростчатые клетки, имеющие характерные признаки микроглиоцитов, и округлые, овальные и вытянутые



**Рис. 2.** Различные формы микроглиоцитов черного вещества головного мозга человека. Одной стрелкой отмечено ядро микроглиоцита, двойной стрелкой отмечено скопление гранул нейромеланина в цитоплазме дофаминергического нейрона, контур которого на препарате не определяется. Окраска: иммуноцитохимическая реакция на белок Iba-1 без подкраски. Масштабный отрезок равен 10 мкм.

клетки без отростков, располагающиеся преимущественно периваскулярно. Это два типа клеток выполняющих в головном мозге сходные функции — микроглиоциты и периваскулярные макрофаги. Необходимо отметить, что микроглиальный маркер Iba-1 (Ionized calcium Binding Adaptor molecule 1) — относится к группе кальций-связывающих белков. Он имеет молекулярную массу 17 кДа и состоит из 147 аминокислот, образующих компактный домен, содержащий два кальций-связывающих участка, богатых гидрофобными аминокислотами [19]. Предполагают, что белок Iba-1 аналогичен другим белкам — AIF-1 (allograft inflammatory factor-1), MRF-1 (microglia response factor) и даинтаину [20, 21]. Про функции Iba-1 известно, что он участвует в реорганизации цитоскелета и изменении конфигурации цитоплазматической мембраны — процессах, происходящих при фагоцитозе [22, 23]. И поэтому закономерным является то, что он экспрессируется в фагоцитирующих клетках нервной системы — микроглиоцитах и макрофагах. Микроглиоциты черного вещества головного мозга могут быть отнесены к основному типу микроглиоцитов, встречающихся в зрелом головном мозге, рамнифицированной (или ветвящейся [24]) микроглии. Активированный фенотип — амeboидная микроглия — не характерен для черного вещества головного мозга человека, включая и субъектов старших возрастных групп.

Второе важное наблюдение состоит в том, что концентрация микроглиоцитов более характерна для нервной ткани ретикулярной части черного вещества, чем для компактной. Это может быть связано с особой функцией микроглиоцитов, установленной в последние годы. Оказалось, что микроглиоциты непосредственно участвуют в регуляции синаптической пластичности [25, 26], а ретикулярная часть черного вещества — важнейшая синаптическая зона.

Третье наблюдение, представляющее несомненный интерес, — обнаружение необычной концентрации белка Iba-1 в ядрах микроглиоцитов. Известно, что другие кальцийсвязывающие белки способны накапливаться в ядрах клеток. Такой способностью, например, обладает кальбиндин, являющийся маркером клеток Пуркинье в коре мозжечка [12]. Однако для других кальцийсвязывающих белков характерно относительно равномерное распределение в ядре клетки. Агрегация Iba-1 в единичной внутриядерной грануле наводит на предположение, что этой гранулой является ядрышко. Однако это предположение нуждается в доказательствах, которые пока отсутствуют. Дело в том, что ядрышки в микроглиоцитах наблюдали ранее только с использованием электронной микроскопии. При световой микроскопии это возможно, применив метод серебрения ядрышек (AgNOR) [27]. Но использование этого метода не позволяет провести идентификацию микроглиоцитов головного мозга. И поэтому вопрос о том, какие внутриядерные структуры в ядре части микроглиоцитов концентрируют кальций-связывающий белок Iba-1, остается открытым.

Таким образом, в настоящем исследовании получены приоритетные данные об организации и распределении микроглии в различных отделах черного вещества головного мозга человека, которые могут служить основой для сравнительного анализа изменений микроглии, происходящих при развитии нейродегенерации дофаминергической нейромедиаторной системы. Новые сведения о внутриядерном распределении белка Iba-1 в клетках микроглии нуждаются в дальнейшей проверке с использованием комплексных методических подходов.

\* \* \*

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 14-04-00049а).

### Литература

1. Alliot F., Godin I., Pessac B. Microglia derive from progenitors, originating from the yolk sac, and which proliferate in the brain // *Brain Res. Dev. Brain Res.* — 1999. — Vol. 117, № 2. — P. 145–152.
2. Harry G. J., Kraft A. D. Microglia in the developing brain: a potential target with lifetime effects. *Neurotoxicology.* — 2012. — Vol. 33. — P. 191–206.
3. Graeber M. B., Streit W. J. Microglia: biology and pathology // *Acta Neuropathol.* — 2010. — Vol. 119. — P. 89–105.
4. Kreutzberg G. W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS // *Trends Neurosci.* — 1996. — Vol. 19, № 8. — P. 312–318.
5. Marshall S. A., McClain J. A., Kelso M. L. et al. Microglial activation is not equivalent to neuroinflammation in alcohol-induced neurodegeneration: The importance of microglia phenotype // *Neurobiol. Dis.* — 2013. — Vol. 54. — P. 239–251.
6. Gonzalez H., Elgueta D., Montoya A., Pacheco R. neuroimmune regulation of microglial activity involved in neuroinflammation and neurodegenerative diseases // *J. Neuroimmunol.* — 2014. — Vol. 274, № 1–2. — P. 1–13.
7. Varnum M. M., Ikezu T. The classification of microglial activation phenotypes on neurodegeneration and regeneration in Alzheimer's disease brain // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* — 2012. — Vol. 60 — P. 251–266.
8. Wójceta M., Sobow T., Ktoszewska I. et al. Expression of immunohistochemical markers on microglia in Creutzfeldt-Jakob disease and Alzheimer's disease: morphometric study and review of the literature // *Folia neuropathologica.* — 2012. — Vol. 50, № 1. — P. 74–84.

9. Коржевский Д. Э., Сухорукова Е. Г., Гилерович Е. Г., Петрова Е. С., Кирик О. В., Григорьев И. П. Преимущества и недостатки цинк-этанол-формальдегида как фиксатора для иммуноцитохимических исследований и конфокальной лазерной микроскопии // Морфология. — 2013. — Т. 143, № 2. — С. 81–85.
10. Коржевский Д. Э., Григорьев И. П., Новикова А. Д., Ковальчук В. А., Кирик О. В. Холинергические структуры поясной коры головного мозга крысы // Медицинский академический журнал. — 2013. — Т. 13, № 4. — С. 49–53.
11. Сырцова М. А., Колос Е. А., Снегова В. А., Гусельникова В. В. Применение различных флуоресцентных красителей для окраски ядер клеток в фиксированном биологическом материале Медицинский академический журнал. — 2014. — Т. 14, № 2. — С. 34–39.
12. Коржевский Д. Э., Гусельникова В. В., Гилерович Е. Г., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г. Применение иммуноцитохимической реакции на кальбиндин для изучения структурной организации дендритов клеток Пуркиньи мозжечка человека // Медицинский академический журнал. — 2014. — Т. 14, № 3. — С. 33–37.
13. Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Алексеева О. С., Коржевский Д. Э. Субэпендимные микроглиоциты третьего желудочка головного мозга // Морфология. — 2014. — Т. 145, вып. 2. — С. 67–69.
14. Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Коржевский Д. Э. Кальций-связывающий белок Iba-1/AIF-1 в клетках головного мозга крысы // Морфология. — 2010. — Т. 137, вып. 2. — С. 5–8.
15. Коржевский Д. Э., Кирик О. В., Сухорукова Е. Г., Власов Т. Д. Структурная организация микроглиоцитов стриатума после транзиторной фокальной ишемии // Морфология. — 2012. — Т. 141, вып. 2. — С. 19–24.
16. Коржевский Д. Э., Ленцман М. В., Кирик О. В., Отеллин В. А. Морфологические типы активированной микроглии гиппокампа, наблюдаемые после транзиторной общей ишемии головного мозга // Морфология. — 2012. — Т. 142, вып. 5. — С. 30–33.
17. Сухорукова Е. Г., Захряпин М. С., Аничков Н. Н., Коржевский Д. Э. Выявление микроглии в препаратах головного мозга длительное время хранившихся в растворе формалина // Морфология. — 2012. — Т. 142, вып. 5. — С. 32–35.
18. Сухорукова Е. Г., Кирик О. В., Коржевский Д. Э. Применение иммуногистохимического метода для выявления микроглии головного мозга в парафиновых срезах // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2010. — Т. 149, № 6. — С. 709–712.
19. Yamada M., Ohsawa K., Imai Y. et al. X-ray structure of the microglia/macrophage-specific protein Iba1 from human and mouse demonstrate novel molecular conformation change induced by calcium binding // J. Mol. Biol. — 2006. — Vol. 364. — P. 449–457.
20. Deininger M. H., Meyermann R., Schluessener H. J. The allograft inflammatory factor-1 family of proteins // FEBS Lett. — 2002. — Vol. 514. — P. 115–121.
21. Kohler C. Allograft inflammatory factor-1/Ionized calcium-binding adapter molecule 1 is specifically expressed by most subpopulations of macrophages and spermatids in testis // Cell Tissue Res. — 2007. — Vol. 33. — P. 291–302.
22. Ohsawa K., Imai Y., Kanazawa H. et al. Involvement of Iba1 in membrane ruffling and phagocytosis of macrophages/microglia // J. Cell Sci. — 2000. — Vol. 133. — P. 3073–3084.
23. Ohsawa K., Imai Y., Sasaki Y., Kohsaka S. Microglia/macrophages-specific protein Iba1 binds to fimbrin and enhances its actin-bundling activity // J. Neurochem. — 2004. — Vol. 88. — P. 844–856.
24. Хожай Л. И., Отеллин В. А. Реактивные изменения микроглии в неокортексе и гиппокампе у крыс после воздействия острой перинатальной гипоксии // Морфология. — 2013. — Т. 143, вып. 1. — С. 23–27.
25. Wake H., Moorhouse A. J., Jinno S. et al. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals // J Neurosci. — 2009. — Vol. 29. — P. 3974–3980.
26. Salter M. W., Beggs S. Sublime microglia: expanding roles for the guardians of the CNS // Cell. — 2014. — Vol. 158, № 1. — P. 15–24.
27. Коржевский Д. Э., Кирик О. В. Специальные методы окраски, используемые для изучения структур клеточного ядра // Морфологическая диагностика: подготовка материала для морфологического исследования и электронной микроскопии: руководство / под ред. Д. Э. Коржевского. — Изд-во: СпецЛит. — 2013. — С. 74–84.

Поступила в редакцию: 25.11.2014 г.

Контакт: Коржевский Дмитрий Эдуардович, [iemmorphol@yandex.ru](mailto:iemmorphol@yandex.ru)

#### Сведения об авторах:

Коржевский Дмитрий Эдуардович — д.м.н., заведующий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия; 197376, ул. Акад. Павлова, 12, тел.: (812) 234-24-38

Кирик Ольга Викторовна — к.б.н., с.н.с. лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия; 197376, ул. Акад. Павлова, 12, тел.: (812) 234-24-38, e-mail: [iemmorphol@yandex.ru](mailto:iemmorphol@yandex.ru)

Сухорукова Елена Геннадьевна — к.м.н., с.н.с. лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы Отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия; 197376, ул. Акад. Павлова, 12, тел.: (812) 234-24-38, e-mail: [iemmorphol@yandex.ru](mailto:iemmorphol@yandex.ru)

Сырцова Марина Александровна — лаборант-исследователь отдела общей и частной морфологии «НИИЭМ» СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-24-38, e-mail: [marina.syrctzova@mail.ru](mailto:marina.syrctzova@mail.ru)

УДК 577.1-581.1-612.017

## ЛПС-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ К ОРЕКСИНАМ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ТИПА (OxR1 И OxR2) В КЛЕТКАХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

*Н. С. Новикова, С. В. Перекрест, К. З. Шаинидзе, В. А. Мазина, А. Д. Штейнцвайг, академик РАН Е. А. Корнева*

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

## LPS-INDUCED GENE EXPRESSION CHANGES OREXIN RECEPTOR TYPES I AND II (AND OxR1 OxR2) IN CELLS OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

*N. S. Novikova, S. V. Perekrest, K. Z. Shainidze, V. A. Masina, A. D. Steinzeig, academician RAS E. A. Korneva*  
Institute of Experimental Medicine of the North West Branch of the Russian Academy of Medical Science, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Статья посвящена изучению динамики экспрессии генов рецепторов к орексинам в клетках структур головного и спинного мозга в первые часы после аппликации различных доз антигена. Впервые показана динамика уровня экспрессии генов рецепторов к орексинам в первые часы после введения Т-независимого антигена — липополисахарида, которая выражается в повышении концентрации мРНК OxR1 и OxR2 в клетках среднего мозга, и только мРНК OxR1 в грудных сегментах спинного мозга. В клетках гипоталамуса определено снижение уровня экспрессии гена рецептора второго типа (OxR2), что свидетельствует о различии вектора ее изменений в орексин-чувствительных клетках различных структур мозга и, возможно, об интенсивности реализации их лиганд-рецепторных взаимодействий с орексинами А и Б. Наиболее выраженные изменения уровня экспрессии генов рецепторов к орексину обнаружены в случаях аппликации антигена малых доз.

**Ключевые слова:** рецепторы к орексинам, экспрессия генов, ЦНС, ЛПС.

The article is devoted to the dynamic of gene expression orexin receptor in cells of the structures brain and spinal cord in the first hours after the application of antigen. First shows the change of dynamic of gene expression of receptors for orexin in the first hours after the introduction of the T-independent antigen — lipopolysaccharide, which is reflected in the increase in the concentration of mRNA OxR1 and OxR2 in the mesencephalon cells, and only mRNA of OxR1 in the thoracic segments of the spinal cord cells. Has been defined reduction of gene expression of a OxR2 in the hypothalamus, which indicates the difference vector changes its orexin sensitive cells of various structures of the brain and possibly their intensity realization of ligand-receptor interactions, orexin A and B. The most expressed changes of level of an expression of genes of receptors to orexin are found in cases of application of an anti-gene of small doses.

**Key words:** orexin receptor, gene expression, lipopolysaccharide.

**Введение.** Одним из актуальных вопросов современной биологии является изучение центральных механизмов кооперации нервной и иммунной систем. Многочисленные работы XX века привнесли огромный вклад в становление и развитие нового научного направления — иммунофизиологии [1–7]. Создание концепции многоуровневой иерархической организации системы регуляции функций иммунных процессов раскрыло новые перспективы для изучения механизмов взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем [2]. Одним из центральных вопросов нейроиммунологии был и остается вопрос о степени специфичности изменений ЦНС, которые вызваны введением иммуностимулирующих препаратов. Исследования

в этой области в настоящее время ведутся достаточно интенсивно, с развитием и внедрением новых технологий происходит переход к изучению клеточных и молекулярных механизмов взаимодействия нервной и иммунной систем. Особое внимание уделяется роли гипоталамуса в нейроиммунных взаимодействиях, что обусловлено функциональными особенностями этой области мозга.

К настоящему времени открыто и изучено большое количество гипоталамических нейропептидов, принимающих участие в регуляции многих вегетативных функций организма, в том числе в регуляции функций иммунной системы. Одними из этих нейропептидов являются орексины [8, 9]. Отростки ней-

ронов, синтезирующих орексины, распространены не только в гипоталамусе, но и в стволовой части головного мозга, а также в спинном мозге [10, 11].

В последнее десятилетие активно изучается участие орексинергической системы мозга в регуляции физиологических функций в норме и при патологии [12–16]. Большинство проводимых исследований сводятся к изучению роли орексина при ожирении, алкоголизме, наркомании, нарколепсии [14, 17–19]. Вопрос об участии системы орексинергических нейронов в механизмах регуляции реакций мозга при формировании иммунного ответа во многом остается открытым.

Многочисленными работами показано, что в ответ на введение антигенов различной природы происходит усиление синтеза с-Fos белка в нейронах гипоталамуса в том числе, в латеральном гипоталамическом поле (ЛНА) [1, 20–25]. Как известно, именно в ЛНА локализовано наибольшее количество орексин-содержащих нейронов [8]. Данные о наличии рецепторов к орексинам и экспрессии их генов в клетках гипоталамических структур [19, 16, 26–28], участвующих в регуляции иммунного ответа [1, 2], а также на стволовых клетках (CD34+) костного мозга и клетках селезенки, надпочечников, печени [16, 29, 30], подтверждают возможность участия орексин-содержащих нейронов в регуляции функций иммунной системы.

Результаты, полученные в работах R. P. A. Gaykema, C. Vecskey, дают основание предполагать, что орексин-содержащие нейроны являются важным звеном в развитии ответных реакций организма на антигенный стимул, в том числе и механизмах развития продромального синдрома. Установлено, что активация орексин-содержащих нейронов (по изменению содержания с-Fos белка в клетках) при исследовательском поведении у крыс значительно снижается после введения ЛПС, тогда как само введение липополисахарида приводит к увеличению количества с-Fos-позитивных орексин-содержащих нейронов в дневное время [31]. Напротив, в ночное время, когда животные активны, введение ЛПС приводит к снижению степени активации орексин-содержащих нейронов, что совпадает с определенными проявлениями продромального синдрома. У мышей, которым после 12-часового голодания давали корм, через 6 часов после введения ЛПС также было продемонстрировано снижение экспрессии гена с-Fos в орексин-позитивных нейронах латеральной гипоталамической области, что коррелировало со сниженным потреблением пищи [17]. Орексины, как медиаторы, реализуют свои эффекты через лиганд-рецепторные взаимодействия с G-белок ассоциированными рецепторами: рецепторами к орексину первого и второго типа — OхR1 и OхR2. Показано, что для нейронов структур мозга, обильно иннервируемых

отростками орексин-содержащих нейронов, характерен высокий уровень экспрессии рецепторов к орексину [9, 26, 28]. Исследования моносинаптических проекций орексин-содержащих нейронов гипоталамуса продемонстрировали присутствие отростков не только в пределах гипоталамуса, но и в различных отделах головного и спинного мозга. Отростки, содержащие орексин, прослеживаются от коры больших полушарий до продолговатого мозга [32] и от шейных до крестцовых сегментов спинного мозга с продольным расположением в пределах 1 и 10 пластин [10]. Исследования с применением электронномикроскопической техники обнаружили синаптические контакты орексин-содержащих отростков с преганглионарными нейронами симпатической нервной системы [33]. Современные технологии позволили определить не только моносинаптические, но и полисинаптические проекции орексин-содержащих нейронов гипоталамуса. Использование вируса псевдобешенства, обладающего способностью перемещаться по аксонам ретроградно и транссинаптически, позволяет исследовать последовательно весь мультисинаптический эфферентный путь иннервации, доходящий до конкретного отдела центральной нервной системы (гипоталамических структур) [34–36]. Именно таким образом были исследованы нервные пути, связывающие гипоталамические структуры, определенные ядра среднего и продолговатого мозга с селезенкой [17]. Вместе с тем, в литературе не представлены лиганд-рецепторные характеристики клеток, участвующих в реализации взаимодействия нервной и иммунной систем при формировании иммунного ответа.

В настоящем исследовании проведено определение уровня экспрессии генов рецепторов 1 и 2 типа к орексинам в клетках головного (промежуточного, среднего и продолговатого) и спинного мозга в первые часы после внутривенного введения липополисахарида методом ПЦР в режиме реального времени.

**Материалы и методы исследования. Экспериментальные животные.** Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Wistar массой 180–200 г. Животных содержали в условиях вивария при комнатной температуре с 12-часовым циклом свет/темнота, свободным доступом к воде и пище, на стандартной диете в соответствии с нормами содержания лабораторных животных. До введения в эксперимент животных в течение 6 дней приучали к экспериментальным условиям: каждый день в одно и то же время крыс брали в руки, поглаживали. Поскольку многие физиологические и биохимические показатели подвергаются существенным колебаниям в течение суток, все эксперименты начинали в одно и то же время.

Эксперименты проведены на животных трех групп: 1-я группа — крысы, которым однократно внутривенно вводили 0,15 М NaCl в объеме 200 мкл (6 животных), 2-я группа — крысы, которым однократно вводили внутривенно липополисахарид (ЛПС) в дозе 25 мкг/кг (7 животных), 3-я группа — крысы, которым однократно вводили внутривенно ЛПС в дозе 500 мкг/кг (7 животных).

Животные были выведены из опыта через 2, 4, 6 часов после внутривенной инъекции в хвостовую вену. Образцы мозга для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени извлекали после декапитации.

**Методы исследования.** В работе использован метод молекулярно-биологического анализа — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Контроль над ходом реакции и регистрацию данных производили с помощью ПК и программы «Opticon Monitor 3.1». Дополнительный контроль специфичности продукта реакции проводили по длине его молекулы при помощи электрофореза в агарозном геле. Длина полученных продуктов соответствовала заданной при подборе праймеров. Статистическую обработку данных осуществляли при помощи *t*-критерия Стьюдента.

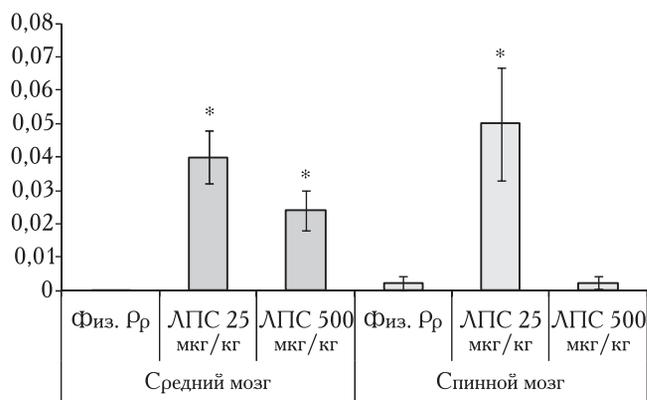
**Результаты исследования.** Использование метода молекулярно-биологического анализа — полимеразной цепной реакции — в режиме реального времени позволяет определить минимальные изменения синтеза мРНК, что и было определяющим при выборе метода для измерений уровня экспрессии генов рецепторов к орексинам (OxR1 и OxR2) в орексин-чувствительных нейронах после введения антигена. При исследовании относительного уровня экспрессии генов рецепторов Ox1 и Ox2 в различных структурах ЦНС (в клетках гипоталамуса, среднего мозга, продолговатого мозга и грудных сегментах спинного мозга) через 2, 4 и 6 часов после внутривенного введения несептической (25 мкг/кг) и субсептической (500 мкг/кг) доз липополисахарида по сравнению с введением физиологического раствора получены следующие данные.

#### I. Экспрессия гена OxR1.

1. Через 2 часа после введения ЛПС в несептической (25 мкг/кг) или субсептической (500 мкг/кг) дозах во всех исследованных структурах (гипоталамус, средний, продолговатый и спинной мозг) изменений уровня экспрессии гена OxR1 не наблюдалось.

2. Через 4 часа после инъекции ЛПС (25 и 500 мкг/кг) определено повышение уровня экспрессии гена OxR1 в клетках среднего и спинного мозга только после введения ЛПС в дозе 25 мкг/кг по сравнению с ее уровнем у животных, которым вводи-

ли изотонический раствор натрия хлорида. В клетках гипоталамуса и продолговатого мозга изменений уровня экспрессии гена OxR1 не наблюдалось (рис. 1).



**Рис. 1.** Уровень экспрессии гена рецептора к орексину 1 типа (OxR1) в отделах среднего и спинного мозга через 4 часа после внутривенного введения ЛПС (25 и 500 мкг/кг).

\* Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с данным показателем после введения изотонического раствора натрия хлорида.

3. Через 6 часов после введения ЛПС в обеих дозах не обнаружено изменений уровня мРНК OxR1 в клетках ни в одном из отделов мозга.

#### II. Экспрессия гена OxR2.

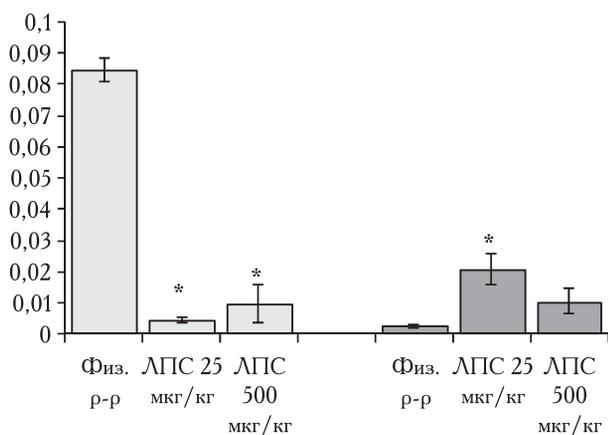
1. Уровень экспрессии гена OxR2 через 2 часа после введения ЛПС (25 мкг/кг и 500 мкг/кг) не изменяется ни в одной из исследованных структур мозга.

2. Через 4 часа после инъекции ЛПС (25 и 500 мкг/кг) определено снижение уровня экспрессии гена OxR2 в клетках гипоталамуса и повышение — в клетках среднего мозга после введения ЛПС только в дозе 25 мкг/кг. В клетках продолговатого и спинного мозга изменений уровня экспрессии гена OxR2 после введения ЛПС не определено (рис. 2).

3. Через 6 часов после введения ЛПС (25 мкг/кг и 500 мкг/кг) изменений уровня экспрессии гена OxR2 ни в одной исследованной структуре не обнаружено.

Таким образом, через 2 и 6 часов после введения ЛПС в субсептической (500 мкг/кг) или несептической (25 мкг/кг) дозах во всех исследованных структурах (гипоталамус, средний, продолговатый и спинной мозг) изменений уровня экспрессии генов OxR1 и OxR2 не определено. Через 4 часа уровень экспрессии гена OxR1 в орексин-чувствительных клетках среднего и спинного мозга возрастает, а интенсивность экспрессии гена OxR2 в клетках среднего мозга увеличивается только после введения ЛПС в несептической дозе (25 мкг/кг). В клетках гипоталамуса снижение интенсивности экспрессии гена OxR2 происходит после введения ЛПС независимо от применяемой

дозы. Через 6 часов после введения ЛПС в обеих дозах изменений уровня экспрессии генов OхR1 и OхR2 не обнаружено во всех исследованных структурах ЦНС.



**Рис. 2.** Уровень экспрессии гена рецептора к орексину 2 типа (OхR2) в гипоталамусе и среднем мозге через 4 часа после внутривенного введения ЛПС (25 и 500 мкг/кг).

\* Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с данным показателем после введения изотонического раствора натрия хлорида.

В результате проведенных исследований определена динамика изменений уровня экспрессии генов рецепторов к орексину в орексин-чувствительных клетках различных отделов центральной нервной системы в первые часы после введения антигена. Наиболее выраженные изменения уровня экспрессии генов рецепторов к орексину обнаружены в случаях аппликации антигена малых доз.

**Обсуждение результатов.** Согласно современным представлениям передача сигнала в системе орексин-содержащих и орексин-чувствительных клеток осуществляется посредством активации двух рецепторов (OхR1 и OхR2), лигандами к которым являются орексины А и В. К настоящему времени подробно исследованы молекулярно-биологические аспекты их лиганд-рецепторных взаимодействий, детально проанализированы клеточные эффекты действия орексинов А и В и возможные пути активации орексин-чувствительных клеток, осуществляемые через связывание орексинов с OхR1 и OхR2 [37, 38]. Показано наличие трансмембранных рецепторов к орексинам на клетках структур головного мозга, участвующих в регуляции функций иммунной системы, а также органов, принимающих участие в формировании иммунного ответа, а именно на клетках надпочечников, почек (только OхR1), щитовидной железы, легких (только OхR2), печени, селезенки, а также на стволовых клетках (фенотип CD34+) [16, 30, 39]. При введении ЛПС происходит активация орексин-содержащих нейронов, оцененная по появлению в них белка c-Fos и повышению уровня экспрессии гена препроорексина [17, 27].

Ранее нами было показано участие орексин-содержащих нейронов гипоталамуса в ответных реакциях мозга на введение ЛПС, выражающееся в изменении содержания орексина в нейронах [41] и интенсивности экспрессии гена пре-проорексина. Однако данные о динамике изменения экспрессии генов рецепторов к орексину в клетках различных отделов мозга как при введении антигена, так и при применении других воздействий в литературе практически отсутствуют. В настоящем исследовании показано, что через 4 часа после введения ЛПС в обеих дозах интенсивность экспрессии генов OхR1 и OхR2 в клетках гипоталамуса значительно снижена, тогда как в клетках среднего и спинного мозга существенно увеличена. Уровень экспрессии гена OхR1 и OхR2 после введения ЛПС оставался практически без изменений через 2 и 6 часов после воздействия во всех исследуемых структурах. Полученные данные не только подтверждают результаты ранее проведенных исследований, свидетельствующих об участии системы орексин-содержащих нейронов в реакциях мозга на введение антигена, но и демонстрируют различную степень восприятия клетками головного и спинного мозга медиаторов — орексинов А и В.

В последние годы в литературе сформировалось мнение о том, что орексин-содержащие нейроны гипоталамуса участвуют в контроле активности симпатической нервной системы [38]. Сопоставление данных об уровне экспрессии гена препроорексина и изменении содержания внутриклеточного орексина после аппликации антигена с результатами данной работы, демонстрирующими изменение уровня экспрессии генов рецепторов орексина, свидетельствует, что в ответ на введение антигена возникает каскад реакций, в который вовлечены определенные группы орексин-содержащих нейронов гипоталамуса и орексин-чувствительных нейронов различных отделов ЦНС.

Впервые установленное ЛПС-индуцированное изменение динамики экспрессии препроорексина и рецепторов OхR1 и OхR2 обуславливает возможность активации процесса взаимодействия орексинов, синтезируемых нейронами гипоталамуса, с рецепторами OхR1 и OхR2, расположенными на мембранах клеток гипоталамуса, среднего мозга, спинного мозга, что, по-видимому, изменяет активность этих клеток, вовлекая их в процесс реализации реакции мозга на антигенное воздействие.

Участие орексин-чувствительных нейронов этих структур в механизмах реализации реакций мозга на антигенное воздействие, происходит, в том числе, и в результате изменения интенсивности лиганд-рецепторных взаимодействий.

Следует подчеркнуть разнонаправленность изменений уровня экспрессии гена *OxR2* в клетках гипоталамуса и среднего мозга через 4 часа после внутривенного введения ЛПС.

Таким образом, изменение уровня экспрессии генов рецепторов к орексинам происходит в первые часы после введения Т-независимого антигена — липополисахарида, и выражается в повышении концентрации мРНК *OxR1* и *OxR2* в клетках среднего мозга, и только мРНК *OxR1* в грудных сегментах спинного мозга. В клетках гипоталамуса определено снижение уровня экспрессии гена рецептора *OxR2*.

ЛПС-индуцированное изменение динамики экспрессии рецепторов *OxR1* и *OxR2*, продемонстрированное в настоящей работе, позволяет полагать, что в первые часы после поступления антигенов, в том числе инфекционной природы, изменяется степень чувствительности клеток-мишеней в гипоталамусе, среднем и спинном мозге к действию орексинов, синтезируемых нейронами гипоталамуса, что подчеркивает важность вовлечения системы орексин-содержащих и орексин-чувствительных нейронов в механизмы реализации реакций мозга на антигенное воздействие.

### Литература

1. Корнева Е. А. О влиянии локального разрушения структур заднего гипоталамуса на интенсивность синтеза белков крови и органов у кроликов // Физиол. журн. СССР им. И. М. Сеченова. — 1969. — Т. 55, № 1. — С. 93–98.
2. Корнева Е. А. Иммунофизиология — становление и основные тенденции развития // Патогенез. — 2007. — № 1–2. — С. 49–59.
3. Корнева Е. А. Основные этапы и тенденции развития иммунофизиологии (к 20-летию основания Международного научного общества по нейроиммуномодуляции) // Медицина XXI век. — 2007а. — № 5. — С. 6.
4. Корнева Е. А., Хай Л. М. Влияние разрушения участков гипоталамической области на процесс иммуногенеза // Физиол. журн. СССР. — 1963. — Т. 49, № 1. — С. 42–48.
5. Шхинек Э. К. О функциональной роли заднего гипоталамического поля в реализации реакций гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы // Проблемы эндокринологии. — 1975. — Т. 21, № 6. — С. 59–65.
6. Pierpaoli W., Besedovsky H. O. Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions // Clin. And Exp. Immunol. — 1975. — Vol. 20, № 2. — P. 323–328.
7. Solomon G. F. Emotions, stress, the central nervous system and immunity // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1969. — Vol. 164. — P. 335–344.
8. Peyron C., Tighe D. K., van den Pol A. N., de Lecea L. et al. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems // J. Neuroscience. — 1998. — Vol. 18, № 23. — P. 9996–1015.
9. Sakurai T., Amemiya A., Ishii M. et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior // Cell. — 1998. — Vol. 92, № 4 — P. 573–585.
10. Van den Pol A. N. Hypothalamic Hypocretin (Orexin): Robust Innervation of the Spinal Cord // J. Neurosci. — 1999. — Vol. 19. — P. 3171–3182.
11. Van den Top M., Nolan M. F., Lee K. et al. Orexins induce increased excitability and synchronisation of rat sympathetic preganglionic neurons // The Journal of Physiology. — 2003. — Vol. 549, № 3. — P. 809–821.
12. Bergman P., Adori C., Vas S. et al. Narcolepsy patients have antibodies that stain distinct cell populations in rat brain and influence sleep patterns // Proc Natl Acad Sci USA. — 2014. — Vol. 111, № 35. — E. 373–3744.
13. Huang Sh-C., Dai Yu-W. E., Lee Y-H. et al. Orexins Depolarize Rostral Ventrolateral Medulla Neurons and Increase Arterial Pressure and Heart Rate in Rats Mainly via Orexin 2 Receptors // J. Pharmacol. Exp. Ther. Aug. — 2010. — Vol. 334. — P. 522–529.
14. Kiyashchenko L I., Mileykovskiy B. Y., Maidment N. et al. Release of Hypocretin (Orexin) during Waking and Sleep States // J. Neurosci., Jul. — 2002. — Vol. 22. — P. 5282–5286.
15. Zeitzer J. M., Buckmaster C. L., Parker K. J. et al. Circadian and Homeostatic Regulation of Hypocretin in a Primate Model: Implications for the Consolidation of Wakefulness // J. Neurosci. — 2003. — Vol. 23. — P. 3555–3560.
16. Zhang S., Blache D., Vercoe P. E. et al. Expression of orexin receptors in the brain and peripheral tissues of the male sheep // Regul. Pept. — 2005. — Vol. 124, № 1–3. — P. 81–87.
17. Becskei C., Riediger H., Harnadfalvy D. et al. Inhibitory effects of lipopolysaccharide on hypothalamic nuclei implicated in the control of food intake // Brain. Behav. Immun. — 2008 — Vol. 22, № 1. — P. 56–64.
18. Beuckmann C., Yanagisawa M. Orexins: from neuropeptides to energy homeostasis and sleep/wake regulation // J. Mol. Med. — 2002. — Vol. 80, № 6. — P. 329–342.
19. Li Y., Gao X. B., Sakurai T., van den Pol A. N. Hypocretin/orexin excites hypocretin neurons via a local glutamate neuron-A potential mechanism for orchestrating the hypothalamic arousal system // Neuron. — 2002. — Vol. 36. — P. 1169–1181.
20. Гаврилов Ю. В., Перекрест С. В., Новикова Н. С. Экспрессия c-Fos белка в клетках различных структур гипоталамуса при электроболевым раздражении и введении антигенов // Росс. Физ. ж. им. И. М. Сеченова. 2006. — Т. 92, № 10. — С. 1195–1203.
21. Корнева Е. А., Казакова Т. Б., Носов М. А. Экспрессия c-fos мРНК и c-Fos-подобных белков в клетках гипоталамических структур при введении антигена // Аллергология и иммунология. — 2001. — Т. 1, № 1. — С. 37–44.

22. Перекрест С. В., Гаврилов Ю. В., Абрамова Т. В. и др. Активация клеток гипоталамических структур при введении антигенов различной природы (по экспрессии *c-fos* гена) // Медицинская иммунология. — 2006. — Т. 8, № 5–6. — С. 631–636.
23. Elmquist J. K., Scammell T. E., Jacobson C. D., Saper C. B. Distribution of Fos-like immunoreactivity in the rat brain following intravenous lipopolysaccharide administration // J. of comp. neurol. — 1996. — Vol. 371, № 1. — P. 85–103.
24. Gaykema R. P. A., Goehler L. E., Armstrong C. B. et al. Differential FOS expression in rat brain induced by lipopolysaccharide and staphylococcal enterotoxin B. // Neuroimmunomodulation. — 1999. — Vol. 6. — P. 220–226.
25. Goehler L. E., Gaykema R. P. A., Hansen M. K. et al. Staphylococcal enterotoxin B induces fever, brain *c-Fos* expression, and serum corticosterone in rats // J. Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol. — 2001. — Vol. 280. — P. 1434–1439.
26. Hervieu G. J., Cluderay J. E., Harrison D. C. et al. Gene expression and protein distribution of the Orexin-1 receptor in the rat brain and spinal cord // Neuroscience. — 2001. — Vol. 103, № 3. — P. 777–797.
27. Marcus J. N., Aschkenasi C. J., Lee C. E. et al. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain // J. Comp. Neurol. — 2001. — Vol. 435. — P. 6–25.
28. Trivedi P., Yu H., Douglas J. et al. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain // FEBS Lett. — 1998. — Vol. 438. — P. 71–75.
29. Jöhren O., Neidert S. J., Kaummer M. et al. P. Preproorexin and orexin receptor mRNAs are differentially expressed in peripheral tissues of male and female rats // Endocrinology. — 2001. — Vol. 142. — P. 3324–3331.
30. Steidl U., Bork S., Schaub S. et al. Primary human CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells express functionally active receptors of neuromediators // Blood. — 2004. — Vol. 104. — P. 81–88.
31. Gaykema R. P. A., Goehler L. E. Lipopolysaccharide challenge-induced suppression of Fos in hypothalamic orexin neurons: Their potential role in sickness behavior // Brain, Behavior, and Immunity. — 2009. — Vol. 23. — P. 926–930.
32. Young J. K., Mingfei Wu, Kebreten F. Manaye et al. Mack and Musa A. Haxhiu. Orexin stimulates breathing via medullary and spinal pathways // J. Appl Physiol. — 1998. — P. 1387–1395.
33. Geerling J. C., Mettenleiter T. C., Loewy A. Orexin neurons project to diverse sympathetic outflow systems // Neurosci. — 2003. — Vol. 122. — P. 541–550.
34. Cano G., Sved A. F., Rinaman L., Rabin B. S., Card J. P. Characterization of the central nervous system innervation of the rat spleen using viral transneuronal tracing // J Comp Neurol. — 2001. — Vol. 439, № 1. — P. 1–18.
35. Denes A., Boldogkoi Z., Uhereczky G. et al. Central autonomic control of the bone marrow: Multisynaptic tract tracing by recombinant pseudorabies virus // Neuroscience. — 2005. — Vol. 25. — P. 1–17.
36. Stanley S., Pinto S., Segal J. et al. Identification of neuronal subpopulations that project from hypothalamus to both liver and adipose tissue polysynaptically // PNAS. — 2010. — Vol. 107, № 13. — P. 7024–7029.
37. Ammoun S., Holmqvist T., Shariatmadari R. et al. Distinct Recognition of OX1 and OX2 Receptors by Orexin Peptides // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2003. — Vol. 305. — P. 507–514.
38. Larsson K. P., Peltonen H. M., Bart G. et al. Orexin-A-induced Ca<sup>2+</sup> Entry: EVIDENCE FOR INVOLVEMENT OF TRPC CHANNELS AND PROTEIN KINASE C REGULATION // J. Biol. Chem. — 2005. — Vol. 280. — P. 1771–1781.
39. Randevo H. S., Karteris E., Grammatopoulos D., Hillhouse E. W. Expression of orexin-A and functional orexin type 2 receptors in the human adult adrenals: implications for adrenal function and energy homeostasis // J. Clin. Endocrinol. Metabolism. — 2001. — Vol. 86, № 10. — P. 4808–4813.
40. Park S.-M., Gaykema R. P. A., Goehler L. E. How does immune challenge inhibit ingestion of palatable food? Evidence that systemic lipopolysaccharide treatment modulates key nodal points of feeding neurocircuitry // Brain Behav. Immun. — 2008. — Vol. 22, № 8. — P. 1160–1172.
41. Percrest S., Abramova T., Novikova N. et al. Changes in immunoreactivity of Orexin-A-Positive Neurons after an Intravenous Lipopolysaccharide injection // Medical Science Monitoring. — 2008. — Vol. 14, № 7. — BR. 127–133.

Поступила в редакцию: 15.12.2014 г.

Контакт: Новикова Наталья Сергеевна, novikiem@gmail.com

#### Сведения об авторах:

Новикова Наталья Сергеевна — старший научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-64, e-mail: novikiem@gmail.com

Перекрест София Владимировна — старший научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-64, e-mail: perekrest.sv@gmail.com

Шаинидзе Кристина Зурабовна — старший научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-64

Пугач Виктория Александровна — младший научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-64

Штейнцвайг Анна Дмитриевна — научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-64

Корнева Елена Андреевна — главный научный сотрудник отдела Общей патологии и патофизиологии ФГБУ НИИ ЭМ СЗО РАМН, ул. Академика Павлова, д. 12, СПб, Россия. Тел. (812) 234-07-24

УДК 616.-036.22(075.8)

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ТРУДОВЫХ МИГРАНТОВ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ

<sup>1</sup>А. Г. Софронов, <sup>1</sup>А. Е. Добровольская, <sup>1</sup>В. Э. Пашковский, <sup>1</sup>В. П. Чащин, <sup>1</sup>М. В. Чащин,  
<sup>1</sup>Л. П. Зуева, <sup>1</sup>Б. И. Асланов, <sup>1</sup>А. Е. Гончаров

<sup>1</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Россия

## PREVALENCE OF SOCIALLY SIGNIFICANT INFECTIONS AMONG MIGRANT WORKERS IN ST. PETERSBURG

<sup>1</sup>A. G. Sofronov, <sup>1</sup>A. E. Dobrovolskaia, <sup>1</sup>V. E. Pashkovsy, <sup>1</sup>V. P. Chashchin, <sup>1</sup>M. V. Chashchin,  
<sup>1</sup>L. P. Zueva, <sup>1</sup>B. I. Aslanov, <sup>1</sup>A. E. Goncharov

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>St. Petersburg State Medical University named after I. P. Pavlov, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Проведен ретроспективный анализ частоты выявления ВИЧ-инфекции, сифилиса и туберкулеза в 2013 году среди трудовых мигрантов, обратившихся за медицинским освидетельствованием в «Единый медицинский центр» в Санкт-Петербурге. В число лиц, прошедших медицинское освидетельствование, вошли граждане Узбекистана, Таджикистана, Киргизии, Азербайджана, Армении, Украины, Молдовы, Литвы и Белоруссии. Общий показатель частоты выявления ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов, прошедших медицинское освидетельствование, составляет 171,1 на 100 тыс. Этот показатель в 5 раз выше, чем среди жителей Санкт-Петербурга, где за 2008–2012 средняя частота носительства ВИЧ составила 34,7 на 100 тыс. населения. Наибольшие показатели отмечаются у мигрантов из Азербайджана, Молдовы и Украины. Наименьшая частота встречаемости ВИЧ — среди мигрантов из Узбекистана, Таджикистана и Киргизии. Полученные показатели частоты сифилиса и туберкулеза также свидетельствуют о высокой их распространенности среди исследуемой популяции. Наибольшая частота туберкулеза отмечается среди мигрантов из Азербайджана, Киргизии и Украины. Наиболее высокая встречаемость сифилиса отмечается у трудовых мигрантов из Азербайджана, Киргизии и Молдовы.

**Ключевые слова:** социально-значимые инфекции, трудовые мигранты, ВИЧ-инфекция.

The study was aimed at a retrospective analysis of the frequency detection of HIV infection, syphilis and tuberculosis in 2013 among migrant workers seeking for medical examination in the Unified Medical Center in St. Petersburg. Number of people who was examined by a doctor included citizens of Uzbekistan, Tajikistan, Kyrgyzstan, Armenia, Azerbaijan, Ukraine, Moldova, Lithuania and Belarus. Total prevalence of HIV infection among migrant workers passed a medical examination is 171,1 per 100 000. This rate is 5 times higher than the average value among the inhabitants of St. Petersburg for 2008–2012, where HIV-infected were 34,7 per 100 thousand of the population. The highest levels of HIV-infected migrants show migrants from Azerbaijan, Moldova and Ukraine. The lowest values of the incidence of HIV infection are among migrants from Uzbekistan, Tajikistan and Kyrgyzstan. The highest levels of tuberculosis show migrants from Azerbaijan, Kyrgyzstan and Ukraine. Migrants from Azerbaijan, Kyrgyzstan and Moldova have the highest prevalence of syphilis.

**Key words:** Socially Significant Infections, migrant workers, HIV infection.

**Введение.** В настоящее время ежегодно в целях переселения и поиска работы границы государств пересекают более чем 200 миллионов человек, т. е. 3,1% от общей численности населения. Мигранты, являясь важным источником экономического развития, составляют значительную и растущую долю населения. Лидерами по приему мигрантов являются США — 45,8 млн человек, Россия — 11,2 млн

человек, Германия — 9,8 млн человек [1, 2]. Известно, что миграции способствуют войны, конфликты, региональные экономические кризисы, экологические катастрофы. Однако основным мотивом к трудовой миграции остается стремление к увеличению личных экономических возможностей вне зависимости от политической и экономической ситуации в стране постоянного проживания, поэтому

трудовых мигрантов не следует полностью отождествлять с вынужденными беженцами, в отношении которых во многих странах создаются преференции. При этом вне зависимости от причин миграции состояние здоровья мигрантов представляет определенную проблему для принимающих стран.

**Целью** настоящего исследования являлось изучение распространенности ВИЧ-инфекции, туберкулеза и сифилиса среди трудовых мигрантов в Санкт-Петербурге в 2013 г.

Исследование проводилось в рамках проекта № 13-04-91456 «Изучение биосоциальных факторов риска ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов с применением многоуровневых методов оценки, включая метод случай-контроль, и ее профилактика».

**Материалы и методы исследования.** Проведен ретроспективный анализ частоты выявления ВИЧ-инфекции, сифилиса и туберкулеза в 2013 году среди трудовых мигрантов, обращающихся за медицинским освидетельствованием в «Единый медицинский центр» в Санкт-Петербурге. В число лиц, прошедших медицинское освидетельствование, входили граждане Узбекистана, Таджикистана, Киргизии, Азербайджана, Армении, Украины, Молдовы, Литвы и Беларуси.

**Результаты и их обсуждение.** В последние годы массовая трудовая миграция влияет на санитарно-эпидемиологическое благополучие населения Российской Федерации. По данным Федеральной миграционной службы, на территории Российской Федерации находятся 10,2 млн иностранных граждан, в том числе граждане Узбекистана (23%), Украины (13,3%) и Таджикистана (более 10%). Характерной чертой трудовой миграции является значительное количество мигрантов с неурегулированным статусом или работающих без разрешительных документов. За период 2007–2013 гг. прошли медицинское освидетельствование более 7,4 млн иностранных граждан. Суммарно выявлено 56 206 больных инфекционными заболеваниями, в том числе ВИЧ-инфицированных — 11 358 (20,2%), больных туберкулезом — 20 881 (37,2%), больных инфекциями, передающимися половым путем (ИППП), — 23 967 человек (42,6%). В 2013 г. зарегистрированы 2909 случаев заболевания другими инфекциями, в том числе брюшным тифом, острыми кишечными инфекциями различной этиологии, связанными с условиями размещения [3].

В Санкт-Петербурге в период с 1990 по 2009 гг. наибольшая инфекционная заболеваемость отмечалась у приезжих граждан из Таджикистана и Узбекистана. Наибольшую эпидемиологическую угрозу для мегаполиса представляли мигранты

с высококонтагиозными заболеваниями: активной формой туберкулеза, прогрессирующими стадиями ВИЧ-инфекции и брюшным тифом [4].

Реализация приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения, вакцинопрофилактика населения, а также обеспечение безопасности среды обитания человека позволили уменьшить уровень инфекционных и массовых неинфекционных заболеваний в России. Однако значительная часть мигрантов остается вне профилактических программ государства, поэтому для более полной стабилизации эпидемиологической обстановки требуется включение мигрантов в общую систему профилактики инфекций [5].

Во многих государствах используются различные методы и подходы к оценке состояния здоровья мигрантов до и после прибытия, однако не существует международного консенсуса о лучшем подходе [6–9]. Процедуры скрининга вновь прибывших регламентируются по-разному. Испания, где медицинское обслуживание доступно без учета иммиграционного статуса или платежеспособности, разработаны детальные, конкретные региональные протоколы [10]. В Канаде, Великобритании, США разработаны протоколы обследования, объем которых широко варьирует. Многие доклады о состоянии инфекционной заболеваемости сосредоточены на небольших группах мигрантов, что создает трудности в сравнении информации или ее экстраполяции на другие группы [11, 12].

В Европе, несмотря на низкую заболеваемость и летальность от инфекционных заболеваний миграционный поток создает риск импортирования инфекций.

Наши исследования по оценке частоты ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов в Санкт-Петербурге представлены в табл. 1.

Проведенный анализ позволил установить, что проблема распространенности ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов является чрезвычайно актуальной. Общий показатель частоты выявления ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов, прошедших медицинское освидетельствование, составляет 171,1 на 100 тыс. (95% доверительный интервал).

Этот показатель в 5 раз выше, чем среди жителей Санкт-Петербурга, где за 2008–2012 гг. среднее значение носительства ВИЧ составило 34,7 на 100 тыс. населения. Данное обстоятельство позволяет рассматривать трудовую миграцию как мощный фактор, вносящий существенный вклад в эпидемический процесс ВИЧ-инфекции в Санкт-Петербурге и в целом в России. Трудовые мигранты представляют собой активную возрастную группу населения, поэтому высокая заболеваемость ВИЧ-инфекцией

среди них создает существенную угрозу распространения этого заболевания среди населения России.

Наибольшие показатели частоты ВИЧ отмечаются у мигрантов из Азербайджана, Молдовы и Украины, наименьшие — среди мигрантов из Узбекистана, Таджикистана и Киргизии.

Наши исследования по выявлению туберкулезной инфекции у трудовых мигрантов представлены в табл. 2.

Как видно из таблицы, общий показатель частоты выявления туберкулезной инфекции среди трудовых мигрантов, прошедших медицинское освидетельство-

Таблица 1

**Статистические данные о впервые выявленных случаях ВИЧ среди трудовых мигрантов, обследованных в «Едином медицинском центре» в 2013 г.**

№ п/п	Страна прибытия	Кол-во обследованных	Кол-во ВИЧ-инфицированных	На 100 тыс. (95% доверительный интервал)
1	Азербайджан	3000	13	433,3 (230,9–739,9)
2	Армения	3610	10	277,1 (132,9–508,8)
3	Киргизия	8965	14	156,1 (85,4–261,9)
4	Молдова	8000	28	350,0 (232,7–505,5)
5	Таджикистан	39 949	61	152,7 (116,8–196,1)
6	Узбекистан	16 3161	234	143,4 (125,6–163,0)
7	Украина	15 783	55	348,5 (262,6–453,4)
8	Беларусь	32	—	0
9	Литва	111	—	0
	Всего	242 611	415	171,1 (155–188,3)

В последние годы росту заболеваемости туберкулезом в мире способствуют неблагоприятная эпидемиологическая обстановка по ВИЧ, а также множествен-

вание, составляет 536,3 на 100 тыс. Наибольшие показатели частоты отмечаются среди мигрантов из Азербайджана, Киргизии и Украины.

Таблица 2

**Статистические данные о впервые выявленных случаях туберкулеза среди трудовых мигрантов, обследованных в «Едином медицинском центре» в 2013 г.**

№ п/п	Страна прибытия	Кол-во обследованных	Кол-во случаев туберкулеза	На 100 тыс. (95% доверительный интервал)
1	Азербайджан	3000	29	966,7 (648,3–1385,4)
2	Армения	3610	10	277,1 (132,9–508,8)
3	Киргизия	8965	85	948,1 (758–1171,1)
4	Молдова	8000	53	662,5 (496,6–865,7)
5	Таджикистан	39 949	258	645,8 (570,8–728)
6	Узбекистан	163 161	752	460,9 (428,9–494,6)
7	Украина	15 783	114	722,3 (596,2–867,1)
8	Литва	111	—	—
	Всего	2 426 579	1301	536,3 (507,8–566)

ная лекарственная устойчивость микобактерий туберкулеза. Частая смена места жительства, языковой барьер, стремление уклониться от контактов с представителями официальных властей создают серьезные препятствия для проведения в отношении данной группы профилактических мероприятий, принятых в нашей стране: ревакцинации детей и подростков, дезинфекции очага туберкулезной инфекции, обследования лиц, находившихся в контакте с заболевшим туберкулезом.

Высокая распространенность туберкулезной инфекции среди трудовых мигрантов представляет высокую эпидемиологическую опасность для жителей Санкт-Петербурга.

Сифилис представляет собой глобальную проблему здравоохранения. В мире ежегодно инфицируются 12 млн человек. Это инфекционное заболевание распространено в Африке, Азии и Южной Америке. Европейский центр по контролю и профилактике

заболеваний (ECDC) сообщил, что общее число случаев сифилиса существенно возросло в большинстве стран Западной Европы в период между 1998 и 2007 г., в основном среди мужчин [13]. В последние годы большинство зарегистрированных случаев сифилиса были связаны с ВИЧ-инфекцией [14, 15]. Отсутствие семьи, новая среда, в которую попадают мигранты, приводят к изменениям стереотипов поведения. Заболеваемость ИПППП среди мигрантов в 2007 г. превысила общероссийский в 3,5 раза [16, 17]. В России, как указано в государственном докладе Роспотребнадзора [3], среди 56 206 больных

чаются у трудовых мигрантов из Азербайджана, Киргизии и Молдовы.

**Выводы.** Проведенное в Санкт-Петербурге исследование показало высокую распространенность социально-значимых инфекционных заболеваний среди трудовых мигрантов, особенно из Азербайджана, Киргизии, Молдовы и Украины.

Для улучшения здоровья мигрантов и сдерживания распространения этих заболеваний необходимо проведение мероприятий, сводящих к минимуму отрицательные последствия процесса миграции. Необходимо получение объективной информации о состоянии здо-

Таблица 3

**Статистические данные о впервые выявленных случаях сифилиса среди трудовых мигрантов, обследованных в «Едином медицинском центре» в 2013 г.**

№ п/п	Страна прибытия	Кол-во обследованных	Кол-во случаев сифилиса	На 100 тыс. (95% доверительный интервал)
1	Азербайджан	3000	36	1200,0 (841,9–1657,5)
2	Армения	3610	18	498,6 (295,8–786,9)
3	Киргизия	8965	106	1182,4 (969,0–1428,3)
4	Молдова	8000	109	1362,5 (1120,1–1641,3)
5	Таджикистан	39 949	288	720,9 (640,3–808,8)
6	Узбекистан	163 161	1208	740,4 (699,3–783,2)
7	Украина	15 783	130	823,7 (688,6–977,3)
	Всего	242 468	1895	781,5 (747,1–817,2)

инфекционными заболеваниями мигрантов выявлено 2179 (35%) больных ИПППП.

Наши исследования по выявлению сифилиса у трудовых мигрантов представлены в табл. 3.

Общий показатель частоты выявления сифилиса среди трудовых мигрантов, прошедших медицинское освидетельствование, составляет 781,5 на 100 тыс. Наиболее высокие показатели встречаемости отме-

рованы у трудовых мигрантов, проведение мониторингов, стимулирование сотрудничества между заинтересованными ведомствами, проведение соответствующих научных исследований. Требуется создать многоуровневый подход к оценке здоровья трудовых мигрантов, учитывающий влияние различных социокультурных, религиозных и поведенческих особенностей, сложившихся в разных странах.

### Литература

1. Доклад Департамента ООН по экономическим и социальным вопросам от 11 сентября 2013 г./www.un.org/Дата обращения 16.08.2014.
2. United Nations Department of Economic and Social Affairs Population Division. Trends in international migrant stock, the 2008 revision. Available at: <http://esa.un.org/migration> Accessed 22 October 2012.
3. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году» // <http://www.rospotrebнадзор.ru>/Дата обращения 16.08.2014.
4. Яковлев А. А., Котлярова С. И., Мусатов В. Б. и др. Инфекционная заболеваемость мигрантов и туристов в Санкт-Петербурге // Журнал инфектологии. — 2011. — Т. 3, № 4. — С. 49–54.
5. Онищенко Г. Г., Симкалова Л. М. Совершенствование Федерального эпидемиологического надзора, обеспечение биологической безопасности населения Российской Федерации // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2013. — № 5. — С. 27–35.
6. Australian Government Department of Immigration and Citizenship. Fact sheet 22 — the health requirement. Available at: <http://www.immi.gov.au/media/fact-sheets/22health.htm#d> Accessed 22 October 2012.

7. Centers for Disease Control and Prevention. Refugee health guidelines. Available at: <http://www.cdc.gov/immigrantrefugeehealth/guidelines/refugee-guidelines.html> Accessed 22 October 2012.
8. Pottie K., Tugwell P., Feightner J. et al. Summary of clinical preventive care recommendations for newly arriving immigrants and refugees to Canada // CMAJ.— 2010. doi:10.1503/cmaj.090313.
9. Seybolt L., Barnett E., Stauffer W. US medical screening for immigrants and refugees: clinical issues // Walker P., Barnett E. D., eds. Immigrant medicine.— Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007.— P. 135–150.
10. López-Vélez R., Navarro B. M., Jiménez N. C. Estudio de inmigración y salud pública: enfermedades infecciosas importadas. Informes, estudios e investigación 2007 // Available at: <http://www.msc.es/profesionales/saludpublica/prevpromocion/promocion/migracion/docs/estudioinmigracion.pdf> Accessed 22 October 2012
11. Health Protection Agency. Assessing migrant patients. Available at: <http://www.hpa.org.uk/MigrantHealthGuide/AssessingMigrantPatients/> Accessed 22 October 2012.
12. Health of resettled Iraqi refugees — San Diego County, California, October 2007–September 2009.// MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.— 2010.— Vol. 59.— P. 1614–1618.
13. Savage E. J., Hughes G., Ison C., Lowndes C. M. European Surveillance of Sexually Transmitted Infections Network. Syphilis and gonorrhoea in men who have sex with men: a European overview // Euro Surveill.— 2009.— Vol. 14, № 47.— ppi:19417.
14. Dougan S., Evans B. G., Elford J. Sexually transmitted infections in Western Europe among HIV-positive men who have sex with men // Sex Transm. Dis.— 2007.— Vol. 34.— P. 783–790.
15. Stolte I. G., Dukers N. H., de Wit J. B. et al. Increase in sexually transmitted infections among homosexual men in Amsterdam in relation to HAART // Sex Transm. Infect.— 2001.— Vol. 77.— P. 184–186.
16. Кубанова А. А., Лесная И. Н., Кубанов А. А. и др. Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации // Вестник дерматологии и венерологии.— 2010.— № 5.— С. 4–21.
17. Кунгуров Н. В., Уфимцева М. А., Малишевская Н. П. и др. Эпидемиологическая роль мигрантов в распространении сифилиса на территориях Урала, Сибири и Дальнего Востока // Вестник дерматологии и венерологии.— 2010.— № 2.— С. 4–9.

Поступила в редакцию: 07.11.2014 г.

Контакт: Александр Генрихович Софронов, [alex-sofronov@yandex.ru](mailto:alex-sofronov@yandex.ru)

#### Сведения об авторах:

Софронов Александр Генрихович — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7903-095-16-79, e-mail: [alex-sofronov@yandex.ru](mailto:alex-sofronov@yandex.ru)

Добровольская Алла Евгеньевна — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7921-306-87-02, e-mail: [maxmmm@yandex.ru](mailto:maxmmm@yandex.ru)

Пашковский Владимир Эдуардович — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7904-630-30-92, e-mail: [pashvladimir@yandex.ru](mailto:pashvladimir@yandex.ru)

Чащин Валерий Петрович — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7921-958-88-85, e-mail: [valerych05@mail.ru](mailto:valerych05@mail.ru)

Чащин Максим Валерьевич — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7921-912-15-45, e-mail: [max\\_chashchin@inbox.ru](mailto:max_chashchin@inbox.ru)

Зуева Людмила Павловна — Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, тел.: +7921-940-65-54 e-mail: [uzueva@mail.ru](mailto:uzueva@mail.ru)

Асланов Батырбек Исметлович — к. м. н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, e-mail: [batyra@mail.ru](mailto:batyra@mail.ru)

Гончаров Артемий Евгеньевич — к. м. н., кафедра эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

Наши подписные индексы:

Агентство «Роспечать» — **57999**

Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

## ЮБИЛЕИ

### К ЮБИЛЕЮ ЕЛЕНА АНДРЕЕВНА КОРНЕВОЙ



5 декабря 2014 года ученому с мировым именем, одному из основателей иммунофизиологии, заслуженному деятелю науки Российской Федерации, академику РАН, профессору Елене Андреевне Корневой исполнилось 85 лет.

Е. А. Корнева окончила 1-й Ленинградский медицинский институт им. академика И. П. Павлова в 1953 году, а затем аспирантуру на кафедре нормальной физиологии этого же института. Ее научным руководителем и учителем был выдающийся ученый-физиолог академик Д. А. Бирюков, научивший многому, в том числе самостоятельности, стремлению к широте видения и интеграции фактов. Он поклонялся «его величеству Факту», что и передал ученикам.

С 1956 года научная деятельность Е. А. Корневой связана с Институтом экспериментальной медицины. Здесь Е. А. Корнева начала свои, ставшие теперь классическими, исследования в области физиологии иммунной системы. Ею был впервые поставлен и исследован вопрос о значении определенных структур мозга в регуляции функций иммунной системы и открыто новое свойство заднего гипоталамического поля при его повреждении угнетать, а при раздражении — стимулировать процесс образования антител. Полученные Е. А. Корневой данные были признаны открытием и внесены Госкомитетом по делам открытий и изобретений в Государственный реестр под № 69.

По результатам этих исследований Е. А. Корневой была разработана концепция организации многоуров-

невой системы нейрогуморальной регуляции иммунологических процессов в целостном организме, которая легла в основу новой, перспективной научной дисциплины — иммунофизиологии (психонейроиммунологии).

В вышедшей в США в 1986 году книге «Основатели психонейроиммунологии» признана приоритетность исследований Е. А. Корневой в этой области, и она названа одним из основоположников этой дисциплины.

В 1986 году Е. А. Корнева была избрана членом-корреспондентом, а в 1997 году — действительным членом Российской академии медицинских наук.

Е. А. Корнева входит в число основателей международных научных обществ по Нейроиммуномодуляции (ISNIM) и Психонейроиммунологии (PNI), избиралась вице-президентом ISNIM и членом президиума PNI, Почетным директором Фонда по Психонейроиммунологии (США).

Е. А. Корнева является крупным организатором науки в нашей стране. Она исполняла обязанности заместителя председателя Научного Совета АМН СССР по физиологии человека, являлась заместителем председателя Научного Совета АН СССР по прикладной физиологии человека, председателем комиссии «Имунофизиология» при Научном Совете РАМН по экспериментальной и прикладной физиологии. В 2004 году за выдающиеся заслуги в области исследования взаимодействия нейроэндокринной

и иммунной систем организма, работу по организации и популяризации науки Е. А. Корнева награждена золотой медалью Президиума Всероссийского научного общества иммунологов.

Е. А. Корнева сумела объединить ученых, работающих в области иммунофизиологии: под ее руководством проведено пять Всесоюзных симпозиумов по проблеме взаимодействия нервной и иммунной систем, Российско-Американские рабочие совещания в Сан-Франциско (1990) и Санкт-Петербурге (1991), Международная конференция «Нейроиммунные взаимодействия и окружающая среда» (1995), четыре Международных симпозиума «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии» (2007–2013 гг.) совместно с Институтом нейробиологии Макса Планка (Германия).

В течение многих лет Е. А. Корнева была членом редколлегий международных журналов «Brain, Behavior and Immunity» и «Neuroimmunomodulation». В настоящее время она входит в состав редколлегий международного журнала «Advances in Neuroimmune Biology», журналов «Патогенез», «Цитокины и воспаление», «Медицинский академический журнал», «Журнал иммунологии».

Е. А. Корнева активно занимается педагогической деятельностью. Впервые в стране в 1987 году она начала читать курс лекций по нейроиммуномодуляции в Ленинградском (в настоящее время — Санкт-Петербургском) государственном университете. В 1993 году под ее редакцией вышло первое в мире руководство по иммунофизиологии (Л.: Наука). В настоящее время Е. А. Корнева — профессор кафедры патофизиологии медицинского

факультета СПбГУ. Она является автором более 400 научных работ, включая 7 монографий.

Е. А. Корневой создана крупная научная школа — подготовлены 12 докторов и более 30 кандидатов наук.

Для научных исследований Е. А. Корневой последних лет характерно углубленное изучение клеточно-молекулярных механизмов регуляции, нарушений и коррекции защитных функций организма уже на рецепторно-сигнальном и генетическом уровне реализации нейроиммунных взаимодействий. Крупнейшими достижениями стали открытие специфичности алгоритмов развития ответа клеток ЦНС на введение конкретных антигенов и разработка новых методов прогнозирования развития заболеваний, вызванных нарушением нейроиммунных взаимодействий, а также возможности их коррекции. Результаты исследования участия орексин-содержащих нейронов гипоталамуса в регуляции нейроиммунных взаимодействий при стрессе и на ранних этапах иммунного ответа позволяют говорить о возможности разработки методов адресного воздействия на эти процессы. Достижения в области изучения антибиотических соединений открывают перспективы для получения антибиотиков с оптимальными свойствами на основе эндогенных антибиотических пептидов и нанокompозитов.

За выдающийся вклад в развитие отечественной науки Е. А. Корнева награждена орденом «Знак Почета» и орденом Дружбы.

Широта взглядов, эрудиция, человеческое участие Е. А. Корневой вызывают глубокое уважение коллег и являются примером для подражания научной молодежи.

*Академическая общественность  
Сотрудники НИИ экспериментальной медицины  
Редколлегия журнала*

## АРТЕМ АКОПОВИЧ ТОТОЛЯН К 85-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ



25 сентября 2014 г. исполнилось 85 лет со дня рождения выдающегося ученого, заслуженного деятеля науки РФ, действительного члена РАН, доктора медицинских наук, главного научного сотрудника ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, профессора А. А. Тотоляна.

Артем Акопович Тотолян родился 25 сентября 1929 года в Ленинакане (Армянская ССР), учился в Грузии в средней школе г. Тбилиси, которую окончил с золотой медалью. В 1954 году получил диплом с отличием в Ереванском медицинском институте. Свою практическую деятельность А. А. Тотолян начал в районной санитарно-эпидемиологической станции в Артикском районе Армянской ССР, где в течение трех лет работал бактериологом. Именно здесь сформировался его интерес к микробиологии. В 1957 г. А. А. Тотолян был принят в аспирантуру в отдел микробиологии НИИ экспериментальной медицины (г. Ленинград), где под руководством академика В. И. Иоффе начал работу над кандидатской диссертацией, посвященной стрептококковым бактериофагам. С этого момента его трудовая и творческая деятельность проходила в стенах этого известного научного учреждения страны, а исследовательские интересы были связаны с изучением патогенных стрептококков.

Артем Акопович Тотолян в течение всей своей научной карьеры работал в НИИ экспериментальной медицины, где он прошел путь от аспиранта до руководителя научного подразделения и заместителя директора.

В 1960 году А. А. Тотолян защитил кандидатскую диссертацию, а в 1979 году — докторскую диссертацию. В 1972 году он создал лабораторию генетики микроорганизмов, на базе которой позднее был образован отдел молекулярной микробиологии. С 1985 до 2012 года он возглавлял отдел, который и по настоящее время является крупнейшим в России и одним из ведущих в мире центров по изучению генетики стрептококков и патогенеза стрептококковых заболеваний.

Научные идеи и гипотезы, сформулированные А. А. Тотоляном, нашли блестящее подтверждение в работах, вышедших из отдела молекулярной микробиологии. А. А. Тотоляном был проведен комплекс работ, посвященных роли внехромосомных факторов стрептококков в патологии, впервые описан и исследован ряд стрептококковых бактериофагов, показана роль бактериофагов как факторов передачи генетической информации между стрептококками, а также обнаружены и изучены новые классы плазмид, несущих гены лекарственной устойчивости и инвертированные повторы.

Под руководством А. А. Тотоляна созданы подходы к изучению факторов патогенности стрептококков, в частности, М-белка — ведущего фактора патогенности данных бактерий, экспериментально доказано, что вирусная инфекция может усугублять развивающиеся после вирусных заболеваний бактериальные инфекции. Теория о роли IgG Fc рецепторных белков стрептококков, как ведущих факторов развития постстрептококкового гломерулонефрита и ревмокардита, в настоящее время является одной из ведущих.

Благодаря инициативе и энергичным усилиям А. А. Тотоляна внимание отечественных неонатологов было впервые акцентировано на изучении роли стрептококков группы В (СГВ) в возникновении патологии беременности и заболеваний новорожденных. Изучение генов поверхностных белков СГВ позволило установить их роль в формировании вирулентного фенотипа данных бактерий, а широкое применение методов генетической инженерии обеспечило возможность развернуть работы по созданию вакцинных препаратов на основе рекомбинантных вариантов поверхностных белков СГВ.

Большой организаторский талант, кипучая энергия, творческий подход к организации работы научных сотрудников, многолетняя творческая деятельность А. А. Тотоляна, направленная на развитие исследований в области генетики патогенности стрептококков, стали основой для формирования всемирно известной отечественной научной школы в области микробиологии.

А. А. Тотолян опубликовано более 300 печатных работ (статьи, монографии, руководства, патенты) в отечественной и зарубежной печати. Им подготовлено 5 докторов и 25 кандидатов наук.

В 1984 г. А. А. Тотолян был избран членом-корреспондентом РАМН, в 1993 г.— академиком РАМН, а в 2013 г.— действительным членом Российской академии наук. В течение многих лет

академик А. А. Тотолян руководил международными научными проектами, совместными с университетами Чехии, Германии, Словакии, Швеции, США и Китая. А. А. Тотолян является блестящим лектором, о чем свидетельствуют его доклады и выступления как на российских, так и международных конференциях. Профессор А. А. Тотолян является руководителем многочисленных проектов Российского фонда фундаментальных исследований, обладателем грантов Президента Российской Федерации для научных школ, разнообразных наград и грамот.

А. А. Тотолян многие годы выполнял функции эксперта Всемирной организации здравоохранения, является почетным членом микробиологических обществ Чехии и Словакии, членом президиума правления Научного общества микробиологов и эпидемиологов РФ, удостоен почетного диплома Университета Оклахомы, США.

А. А. Тотолян по-прежнему является активным научным сотрудником Института экспериментальной медицины, а его вклад в развитие этого научного учреждения отмечен вручением премии им. Принца А. П. Ольденбургского (2007 г.), вручением золотого знака ИЭМ (2010 г.), а также избранием Почетным доктором НИИ экспериментальной медицины (2004 г.). А. А. Тотолян отмечен также правительственными наградами — Знаком Почета и орденом Дружбы.

*Коллектив ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН, редколлегия «Медицинского академического журнала», а также многочисленные друзья и коллеги поздравляют Артема Акоповича Тотоляна с юбилеем и желают кавказского долголетия и неиссякаемой энергии.*

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

1. Статьи для публикации должны быть написаны на русском языке, иметь реферат (резюме), ключевые слова (3–4) на русском и английском языках.

2. Статьи представляются в редакцию на электронных и бумажных носителях. Если у автора есть затруднения с пересылкой статьи по почте, предоставление материала возможно в электронном виде. Все страницы должны быть пронумерованы от первой до последней страницы, без пропусков и литерных добавлений (например, 2а и т. п.).

3. Объем статьи не должен превышать:

3.1. Передовая статья, обзор, лекция — 25 страниц;

3.2. Оригинальная статья — 15 страниц;

3.3. Рекомендации для врачей — 5 страниц;

3.4. Рецензии, информация, хроника — 3 страницы.

4. Статья должна иметь следующие разделы.

4.1. Титульный лист — указываются название статьи, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, город на русском и английском языках. Титульный лист должен быть подписан всеми авторами.

4.2. Резюме — до 1500 знаков, отражает цель, основные методы исследований, важнейшие результаты.

4.3. Основной текст должен включать в себя следующие разделы, расположенные в установленном порядке:

4.3.1. Введение;

4.3.2. Материалы и методы исследования — обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала;

4.3.3. Результаты и их обсуждение;

4.3.4. Выводы;

4.3.5. Литература.

5. Каждая таблица должна иметь номер и название. Рисунки, графики, схемы должны быть черно-белыми с различной штриховкой, выполнены в электронном (отдельными файлами с сохранением возможности редактирования) и бумажном вариантах отдельно от текста, а также иметь подрисовочные подписи без сокращений и дублироваться в тексте. При включении в публикацию растровой графики (сканированных, цифровых снимков, снимков с экрана мониторов и т. п.) предпочтение отдается рисункам с размером меньшей стороны не менее 5 см (640 пикселей), в форматах pdf, tiff, jpeg (максимальное качество).

6. Библиографический список.

6.1. Библиографические описания источников располагают в порядке упоминания их в тексте статьи и нумеруют арабскими цифрами.

6.2. В лекции можно давать список рекомендуемой литературы, и тогда в тексте ссылаться на источники не обязательно.

6.3. Библиографический список оформляют в соответствии с действующим ГОСТом, указываются все авторы цитируемых работ.

6.4. Ссылки на цитируемые работы в тексте дают в виде порядковых номеров, заключенных в квадратные скобки. Не следует включать в список литературы диссертации.

6.5. Примеры:

1. Ткаченко Б. И. Физиология человека. — СПб.: Наука, 2000. — 400 с.

2. Шабанов П. Д. Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. — 2001. — Т. I, № 1. — С. 27–35.

3. Лебедев А. А. Поведенческие эффекты алапиды у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е. С. Петрова. — СПб.: Питер, 2000. — С. 56–78.

7. Данные об авторах статьи должны включать следующие сведения: фамилия, имя, отчество, место работы с указанием города и страны, адрес для переписки и номер телефона для связи, e-mail.

8. Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и др.), названия лекарственных средств — Государственной Фармакопее, единицы физических величин — системе единиц СИ.

9. Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, статья возвращается на доработку. Датой поступления статьи считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи.

11. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление, издание, распространение и доведение до всеобщего сведения публикаций, а также включение журнала в различные базы данных и информационные системы. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.

12. Редакция высылает авторам 1 копию журнала, в котором опубликована статья.

13. Редакция не выплачивает гонорара за статьи и не взимает плату за опубликование рукописей.

14. Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей, статей, содержащих коммерческую информацию по профилю журнала с указанием «Публикуется на правах рекламы». Размещение рекламы в журнале платное. Объем помещения рекламной информации в журнале ограничен.

15. Материалы следует направлять ответственному секретарю Александру Валентиновичу Дмитриеву. Адрес: Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский пр., д. 71, СЗО РАМН, электронная почта: [medicalacfdemicjournal@gmail.com](mailto:medicalacfdemicjournal@gmail.com), [admitriev10@yandex.ru](mailto:admitriev10@yandex.ru).

**Мы рады всем Вашим статьям, представленным в наш журнал!**

**Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов опубликованных материалов.**

**Редакция не несет ответственности за последствия, связанные с неправильным использованием информации.**

**Уважаемые читатели**  
**«Медицинского академического журнала»!**

Сообщаем, что открыта подписка на первое полугодие 2015 года.

Наши подписные индексы:  
Агентство «Роспечать» — **57999**  
Объединенный каталог «Пресса России» — **42190**

Периодичность — 4 номера в год.

Для подписки можно воспользоваться бланком.

		Министерство связи Российской Федерации		на <del>газету</del> журнал		<b>57999</b> (индекс издания)					
		<b>АБОНЕМЕНТ</b>		<b>Медицинский</b>							
		(наименование издания)		Количество комплектов:							
		<b>академический журнал</b>		на 201__ год по месяцам							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
X	X		X	X		X	X		X	X	
Куда		(почтовый индекс)		(адрес)							
Кому		(фамилия, инициалы)									

				на <del>газету</del> журнал		<b>57999</b> (индекс издания)					
		<b>ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА</b>		<b>Медицинский академический журнал</b>							
		(наименование издания)		Стоимость		Количество комплектов:					
		пв		место		лит-тер					
		подписки		_____ руб. _____ коп.		Количество комплектов:					
		пере-адресовки		_____ руб. _____ коп.							
		на 201__ год по месяцам									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
X	X		X	X		X	X		X	X	
Куда		(почтовый индекс)		(адрес)							
Кому		(фамилия, инициалы)									

**Глубокоуважаемые коллеги!**

Оргкомитет имеет честь пригласить Вас на III Межрегиональный симпозиум «ВИЧ-медицина и фармакоэкономика», который состоится 19 февраля 2015 г. Оргкомитет: академик РАН Н. А. Беляков.

Место проведения: г. Санкт-Петербург, Лермонтовский пр., д. 43/1, гостиница «Азимут», Вход № 2, 18 этаж, (ст. метро «Балтийская»).

Информация о мероприятии размещена на сайте: [www.hiv-spb.ru](http://www.hiv-spb.ru)

**Медицинский академический журнал**

Свидетельство о регистрации: ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

Редактор: Т. В. Руксина

Верстка: К. К. Ершов