

## АЛГОРИТМ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИГЕННОЙ И НЕАНТИГЕННОЙ ПРИРОДЫ И ПРОБЛЕМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕРВНОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ

*Академик РАМН КОРНЕВА Е. А., НОВИКОВА Н. С., ПЕРЕКРЕСТ С. В., ШАИНИДЗЕ К. З., АБРАМОВА Т. В., ГАВРИЛОВ Ю. В.*

*Лаборатория иммунопатофизиологии,  
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,  
Санкт-Петербург*

**Корнева Е. А., Новикова Н. С., Перекрест С. В., Шаинидзе К. З., Абрамова Т. В., Гаврилов Ю. В.** Алгоритм реакций мозга на дестабилизирующие воздействия антигенной и неантигенной природы и проблема взаимодействия нервной и иммунной систем // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 135–148. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Представлен анализ современной литературы и результатов исследования клеточно-молекулярных механизмов развития реакций мозга на дестабилизирующие воздействия различной природы. Определены особенности клеточных и структурных ансамблей гипоталамуса, характер активации которых зависит от модальности стимула (ограничение подвижности, болевые раздражения, электромагнитное излучение, введение коротких пептидов и антигенов различной природы). Применение комплексного анализа количества c-Fos-позитивных клеток, размера их площади и оптической плотности позволило определять степень активации структур гипоталамуса, типы нейронов и интенсивность их реакции на конкретное воздействие. Продемонстрирована зависимость алгоритма активации структур гипоталамуса от природы вводимого антигена, степени его иммуногенности и количества введенного вещества. Показаны модулирующие эффекты действия коротких пептидов вилон, эпیتالона и электромагнитного облучения в диапазоне крайне высоких частот на активность клеток гипоталамуса, измененную в результате действия дестабилизирующих факторов. Выявлена дискретность реакций орексинсодержащих нейронов гипоталамуса на стимулы антигенной и неантигенной природы, что демонстрирует их участие в механизмах реализации реакций мозга на эти сигналы. Сочетанное применение комплекса молекулярно-биологических и морфометрических методов позволило продемонстрировать различия алгоритмов реакций мозга, характерных для ответа на конкретные стимулы, в том числе и антигенной природы.

*Ключевые слова:* нейроиммунное взаимодействие, стресс, c-fos ген, c-Fos белок, орексин, КВЧ-облучение, пептиды.

**Korneva E. A., Novikova N. S., Perekrst S. V., Shainidze K. Z., Abramova T. V., Gavrilov Y. V.** Algorithm of brain reactions to destabilizing antigenic and non-antigenic factors and problem of neuro-immune interactions // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 135–148. Institute of Experimental Medicine NWB RAMS, St. Petersburg, Russia, 197376.

In present work the analysis of current literature and data on molecular and cell mechanisms of brain reactions to different destabilizing factors is given. The characteristics of hypothalamic cell and structure ensembles, which activation depends on stimulus modality (movement restriction, pain, electro-magnetic irradiation, injection of short peptides and different antigens) is determined. Applying of complex analysis of c-Fos-positive cell quantity, their size and optical density allowed to reveal activation level of hypothalamic structures, neurons types and intensity of their reaction to concrete stimuli. The dependence of algorithm of hypothalamic structure activation from the nature of injected antigen, its immunogenicity and concentration. The modulating effects of short peptides vilon and epitalon as well as electromagnetic irradiation by waves of extremely high frequency on hypothalamic cell activation, altered by destabilizing factors, is shown. The discreteness of reactions of hypothalamic orexin neurons to antigen and non-antigen stimuli was revealed that demonstrate their participation in mechanisms of realization of brain reactions to these signals. The complex applying of molecular-biological and morphometric methods allowed to demonstrate the difference between algorithms of brain reactions characteristic for answer to definite stimuli including antigen.

*Key words:* neuro-immune interactions, stress, c-fos gene, c-Fos protein, orexin, EHF-irradiation, peptides.

Для корреспонденции: Новикова Наталья Сергеевна, тел. (812)2340764, +79216548735, [noviknem@gmail.com](mailto:noviknem@gmail.com)

Исследования в области иммунофизиологии (нейроиммуномодуляции, психонейроиммунологии) – сравнительно молодой научной дисциплины – в течение многих десятилетий были сосредоточены на анализе эффектов влияния центральной нервной и эндокринной систем на течение иммунологических

процессов и некоторых механизмов реализации этих влияний, в частности роли нейромедиаторов.

В 80-е гг. прошлого столетия появились электрофизиологические исследования, продемонстрировавшие реакции мозга на введение антигена [9, 10, 29], что впервые позволило перейти от представле-

ний о влиянии ЦНС на функции иммунной системы к понятию о нервной регуляции этих функций, т. е. являлись принципиально важным шагом в развитии проблемы.

Появление современных высокоточных технологий, в частности молекулярно-биологических и генетических методов анализа, определило возможность изучения процессов, происходящих в мозге при действии дестабилизирующих факторов, на совершенно новом, ранее недоступном уровне. Использование этих методов позволяет определить не только структуры мозга, реагирующие на конкретный стимул, но и особенности клеточных ансамблей, активирующихся в данной ситуации, т. е. продемонстрировать алгоритм реакций мозга, развивающихся при действии того или другого стрессорирующего фактора или антигенов различной природы. Это стало возможным благодаря открытию маркера активации клеток – c-fos гена и c-Fos белка, появление которого в клетке свидетельствует об ее активации [32].

Следует подчеркнуть, что, если экспрессия c-fos мРНК отражает факт реакции клетки на получение информационного сигнала, то появление c-Fos белка говорит об изменении метаболизма клетки, что и является одним из первых этапов, необходимых для ее активации.

Кроме того, в настоящее время появилась возможность использования иммуногистохимического метода анализа, а также высокочувствительной техники полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени для анализа экспрессии конкретных генов, что позволило определить экспрессию цитокинов и белковых продуктов в мозге, в том числе недавно открытых нейромедиаторов – орексинов, мРНК препроорексина и мРНК рецепторов к орексинам.

Применение комплекса этих высокочувствительных технологий сделало возможным впервые определить, какие клеточные ансамбли участвуют в механизмах развития реакций мозга на действие антигенов и других дестабилизирующих факторов, а также изучить возможность коррекции этих изменений с помощью химических и физических (волновых) методов воздействия.

### ЭКСПРЕССИЯ c-fos мРНК И c-Fos БЕЛКА В НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА ПРИ ВВЕДЕНИИ АНТИГЕНОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Одной из актуальных проблем современной иммунофизиологии является изучение эффектов действия антигена и процесса формирования иммунного ответа на функции нервной системы.

Новый этап в исследовании механизмов реализации реакций мозга на антиген обусловлен открытием маркера активации нейрональных клеток, которым является продукт протоонкогена c-fos – c-Fos белок [32]. Сигналом для активации экспрессии гена c-fos служит деполяризация нейрона. Важную роль в регуляции экспрессии гена играет внутриклеточная концентрация ионов кальция [27]. Основная особенность данного белка, как маркера активации, заключается в том, что в норме уровень экспрессии c-fos гена достаточно низок, а при активации клетки в ранние сроки (через 2 ч) содержание продуцируемого белка в клетке достигает максимума. Показана активация различных структур мозга, включая гипоталамус, оцененная по уровню экспрессии гена c-fos и изменению содержания белка c-Fos в клетках в ответ на разнообразные воздействия, в том числе и введение антигена [37, 42, 48].

В литературе представлены немногочисленные результаты исследования реакций мозга после введения стафилококкового энтеротоксина – Т-зависимого антигена, - свидетельствующие о преимущественной активации нейронов амигдаллы [40, 42]. Как правило, в исследованиях реакции мозга при изменениях функций иммунной системы в качестве Т-независимого антигена используется ЛПС – компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, спектр применяемых доз которого достаточно широк. При введении ЛПС исследуют, как правило, изменения вегетативных функций и поведенческих реакций, сопровождающих развитие инфекционных процессов, а также реакций структур мозга, имеющих отношение к их регуляции. Показано, что после введения различных доз ЛПС уровень синтеза белка c-Fos увеличивается в клетках вентромедиальной преоптической области (VMPO), паравентрикулярного (PVN), супраоптического (SO) и аркуатного (ARN) ядер гипоталамуса, латеральной гипоталамической области (LHA), структурах амигдалы, а также ядрах таламуса [37, 38, 41]. Однако различия в условиях исследований не позволяют представить полную картину вовлечения гипоталамических структур в реакции мозга на введение этого антигена.

Особый интерес представляет сравнительный анализ алгоритмов активации клеток и структур гипоталамуса после введения антигенов различной природы, поскольку позволяет получить представление о том, связан ли характер наблюдаемых в гипоталамусе реакций с природой и степенью иммуногенности введенного антигена. В этих целях изучены особенности паттерна нейронов гипоталамуса после введения столбнячного анатоксина, бычьего сывороточного альбумина и липополисахарида.

Все эксперименты проведены на крысах Вистар. Анализируемые структуры гипоталамуса и уровни мозга, на которых произведены срезы, были верифицированы согласно атласу мозга крыс Swanson's [65].



Анализ эффектов действия в/в введения столбнячного анатоксина – препарата, содержащего модифицированный химическим путем экзотоксин, лишенный токсических свойств, но сохранивший высокую степень иммуногенности, относящегося к Т-зависимым антигенам, – на интенсивность экспрессии *c-fos* гена, определяемую методом гибридизации *in situ* мРНК – кДНК *c-fos* и иммунохимического анализа содержания *c-Fos* белка на срезах мозга крыс в динамике, позволило не только описать характер этих реакций, но и обнаружить различия между этими реакциями. Экспрессия мРНК в нейронах выражена значительно интенсивнее и наблюдается в большем количестве структур, по сравнению с изменениями синтеза *c-Fos* белка. Эти данные свидетельствуют о том, что сигнал (информация) о поступлении антигена приходит в большое количество клеток, которые реагируют усилением экспрессии *c-fos* мРНК, однако не все эти клетки продуцируют *c-Fos* белок, который и обуславливает изменение метаболизма, ведущего к активации клетки. Иными словами, не все клетки, получающие информацию о поступлении антигена, отвечают повышением активности.

В результате анализа количества клеток гипоталамических структур, экспрессирующих мРНК *c-fos* и синтезирующих *c-Fos* белок, в динамике после введения столбнячного анатоксина, выделено три варианта пространственно-временных паттернов активации гипоталамических структур: 1) структуры, в которых максимум активации констатирован через 2 ч после введения антигена (LHA, DMH, RH, VMH) (рис. 1); 2) через 6 ч (переднее гипоталамическое ядро (AHN) и PVH); 3) структуры, степень активации которых после введения антигена не изменялась Агс и SO [11]. Таким образом, для комплекса реакций гипоталамических структур на введение столбнячного анатоксина характерен определенный пространственно-временной паттерн, характеризующийся не только степенью активации нейронов, но и их локализацией.

Использование бычьего сывороточного альбумина (БСА) в качестве Т-зависимого антигена, обладающего низкой степенью иммуногенности, обус-

ловлено именно этими особенностями, а выбранную дозу (25 мг/кг веса животного) определяли, как минимальную, вызывающую иммунный ответ (определение количества антителообразующих клеток в селезенке крыс по реакции локального гемолиза).

Количество *c-Fos*-позитивных клеток гипоталамуса возрастает в большинстве его структур через 2 ч после введения БСА, при этом оптическая плотность окраски *c-Fos* белка в клетках VMH, RH и LHA существенно выше, чем в клетках других структур, что косвенно свидетельствует о более интенсивной реакции этих клеток на введение антигена (рис. 2А). Паттерн структур гипоталамуса, реагирующих на введение этого белка, позволяет также говорить о характерных для этой ситуации особенностях реакции мозга. Паттерн активации структур гипоталамуса через 2 ч после введения БСА [21] отличался от такового, индуцированного введением столбнячного анатоксина [53], по количеству реагирующих структур и степени интенсивности активации клеток.

Для сравнительного анализа степени активации клеток и структур гипоталамуса на введение антигена другой природы был выбран ЛПС – Т-независимый антиген. Дозы: 25 мкг/кг веса животного – минимальная, которая вызывала иммунный ответ, определяемый реакцией пассивной агглютинации, и 500 мкг/кг веса животного – субсептическая. Наибольшее количество активированных нейронов определяется в структурах: АНН, PVH, RH и в части LHA. Усиленная активация клеток характерна только для части LHA, которая соответствовала 28 уровню мозга (рис. 2Б) [21]. Следует отметить, что LHA и RH реагируют на введение ЛПС в малой дозе более интенсивно по сравнению с реакцией на введение ЛПС в дозе 500 мкг/кг. В АНН, напротив, значительно большее количество *c-Fos*-позитивных нейронов наблюдается при введении ЛПС в дозе 500 мкг/кг. Степень активации нейронов PVH не зависит от дозы введенного препарата. Оптическая плотность окраски *c-Fos*-позитивных клеток исследуемых структур после введения ЛПС не изменяется (рис. 2А).

Результаты сравнительного анализа особенностей активации клеток гипоталамуса после в/в введения ЛПС – Т-независимого антигена и антигенов, относящихся к Т-зависимым и характеризующихся различной степенью иммуногенности, БСА и столбнячного анатоксина, позволили выделить структуры, характеризующиеся значительным увеличением количества *c-Fos*-позитивных клеток (LHA и RH). Анализ эффектов действия антигенов различной природы при их введении в минимальной дозе, вызывающей иммунный ответ, демонстрирует выраженные различия реакций на ЛПС и БСА, хотя аппликация БСА инициирует активацию меньшего количества клеток, но содержание в них белка *c-Fos* возрастает, что проявляется повышением оптической плотности клеток. Таким образом, в первые часы после

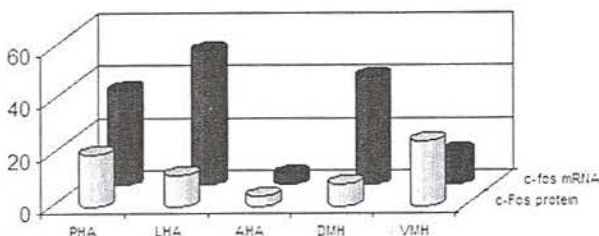


Рис. 1. Динамика активации синтеза *c-fos* мРНК и *c-Fos*-белка в клетках структур гипоталамуса крыс после введения столбнячного анатоксина.

По оси ординат: количество меченых клеток.

■ – мРНК *c-fos*, □ – *c-Fos* белок



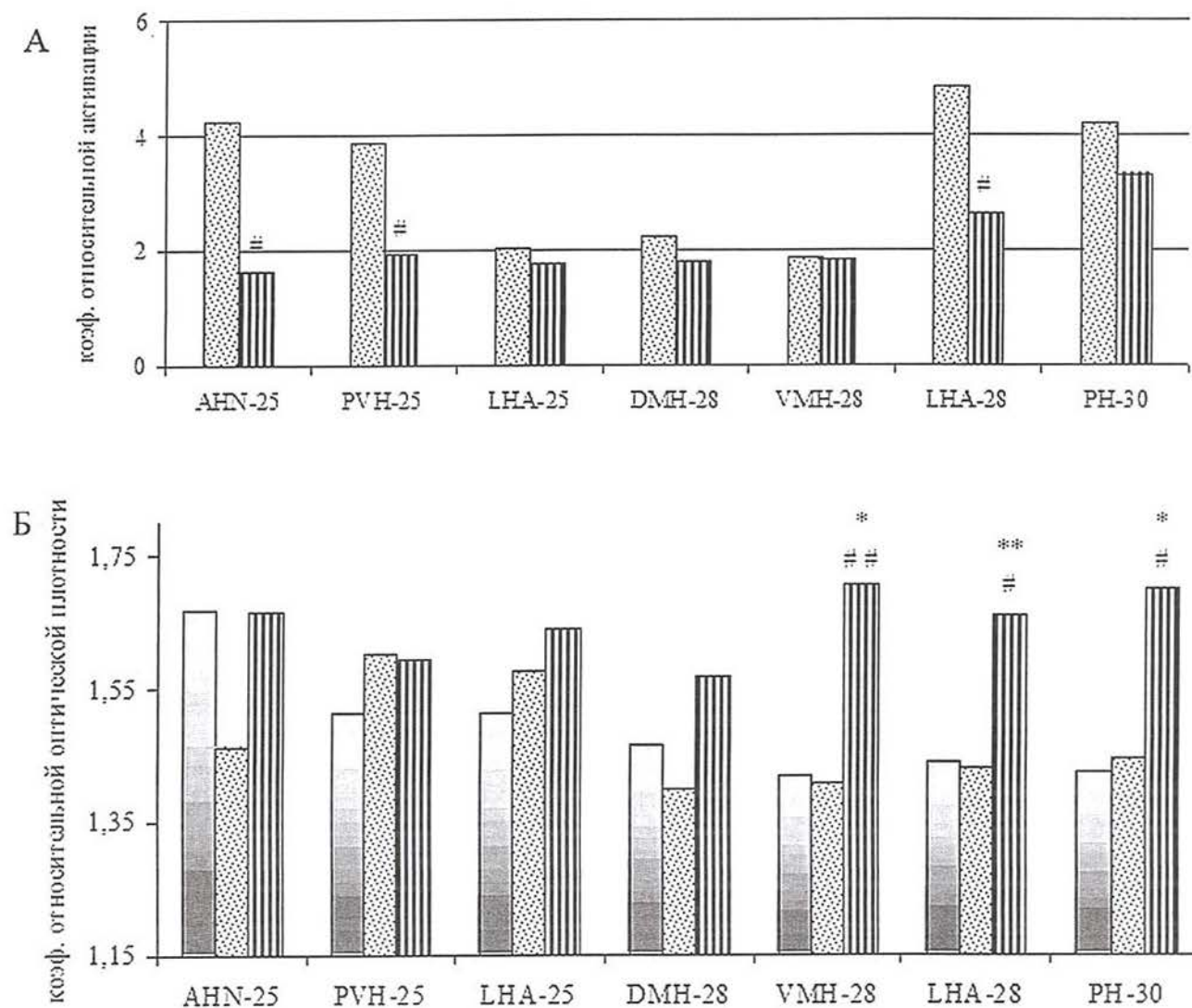


Рис. 2. Количество с-Fos-позитивных клеток и их оптическая плотность в гипоталамических структурах мозга крыс через 2 ч после введения антигенов различной природы: А – относительная оптическая плотность (ООП) с-Fos-позитивных клеток в гипоталамических структурах мозга крыс через 2 ч после введения липополисахарида (ЛПС) и бычьего сывороточного альбумина (БСА); Б – количество с-Fos-позитивных клеток после введения ЛПС и БСА.

Группы животных после введения: □ – физиологического раствора, ▨ – ЛПС, ▨ – БСА.

\* –  $P < 0,01$ ; \*\* –  $P < 0,05$  по отношению к ООП у животных после введения физиологического раствора;

# –  $P < 0,01$ ; ## –  $P < 0,05$  по отношению к ООП у животных после введения ЛПС

введения антигенов разной природы (Т-зависимого и Т-независимого) наблюдается активация определенных гипоталамических структур, паттерн которой характерен для реакции на введение конкретного антигена.

### ЭКСПРЕССИЯ с-Fos БЕЛКА В НЕЙРОНАХ ГИПОТАЛАМУСА ПРИ СТРЕССИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Характер проявления взаимодействия нервной и иммунной систем в большой мере зависит от условий среды. Постоянное влияние физических, эмоциональных и психологических факторов, вызывающих

стрессорные реакции, может приводить к снижению защитных функций организма и повышению риска развития заболеваний инфекционной, аллергической и опухолевой природы [14, 32].

Применение морфометрического анализа для определения степени активации гипоталамических структур, измененной после стрессирующих воздействий различной модальности, позволило не только определить изменения количества с-Fos-позитивных клеток, но и охарактеризовать типы клеток, наиболее активно участвующих в ответных реакциях мозга на внешние стимулы. К настоящему времени накоплен большой объем данных, свидетельствующих об усилении синтеза с-Fos белка в клетках

мозга, в том числе и гипоталамуса, под действием различных стимулов [17, 32, 34, 43, 48].

Согласно классификации, созданной на основании нейроморфологических исследований [22], в гипоталамических структурах выделяют: 1) крупноклеточные нейросекреторные (размер клеток 250–350 мкм<sup>2</sup>) и 2) мелкоклеточные ядра (размер клеток 10–150 мкм<sup>2</sup>). Для последних характерно наличие нейронов двух типов: а) клетки малых размеров (от 10 до 50 мкм<sup>2</sup>) – ассоциативные, передающие информацию в пределах определенной структуры гипоталамуса, в их аксонах определены ветвления до третьего порядка; б) клетки более крупного (среднего) размера (от 50 до 150 мкм<sup>2</sup>), отличающиеся от клеток первого типа по размеру сомы, числу и рисунку дендритов, а также по протяженности аксонов (релейные клетки), отростки которых могут выходить за пределы не только своей структуры, но и гипоталамуса. Анализ количества с-Fos-позитивных клеток различного размера является важным критерием для определения характера реакций нейронов на раздражители различной природы.

Принимая во внимание, что концентрация клеток в гипоталамических структурах различна, определен процент с-Fos-позитивных клеток по отношению к общему числу клеток в каждой исследованной структуре гипоталамуса, что позволило не только выявить структуры с наибольшим количеством активированных клеток, но и сравнить интенсивность ответа различных структур гипоталамуса на данный стимул.

Механическое болевое раздражение приводит к увеличению относительного количества с-Fos-позитивных клеток в большинстве исследуемых структур (менее чем на 50% по отношению к общему количеству клеток в структуре на одинаковой площади). После электроболевого раздражения относительное количество с-Fos-позитивных клеток во всех структурах гипоталамуса возрастало на 72,02–98,95%. Сравнение относительных коэффициентов степени активации гипоталамических структур позволило определить структуры, реагирующие на электроболевое раздражение наиболее интенсивно (PVH, VMH, PH) по сравнению с реакцией этих же ядер и полей на механическое воздействие [17].

Ранжирование клеток на классы по размерам их площади и последующий количественный анализ этих результатов позволил выявить, клетки каких типов синтезируют с-Fos белок более интенсивно в ходе реализации реакций мозга на электроболевое раздражение. Анализ процентного соотношения числа клеток определенного класса к общему количеству с-Fos-иммунореактивных клеток показал, что увеличение количества с-Fos-позитивных клеток во всех структурах гипоталамуса при электроболевом раздражении происходит за счет увеличения количества активированных клеток среднего размера, площадь которых составляет 50–90 мкм<sup>2</sup> [17].

Следует отметить, что определенные стрессорирующие воздействия – иммобилизация, болевое раздражение – могут вызывать угнетение активности клеток иммунной системы, в частности цитотоксической активности натуральных киллеров (NK) селезенки [49, 63]. Известно, что в регуляцию цитотоксической активности NK селезенки вовлечены такие гипоталамические структуры, как LHA и VMH [69]. В отличие от LHA, электрическая стимуляция VMH оказывает подавляющее действие на цитотоксическую активность NK селезенки. Полученные нами данные, свидетельствуют о высокой степени активации клеток VMH после электроболевого раздражения, что коррелирует с подавлением цитотоксической активности NK селезенки, определенной в параллельно проведенных исследованиях [63].

Известно, что стрессорирующие воздействия могут приводить к усугублению течения инфекционных процессов. При длительном и выраженном стрессе пролиферативная активность Т-клеток подавлена. При иммуносупрессирующем стрессе происходит изменение лиганд-рецепторных взаимодействий на мембранах лимфоидных и нервных клеток, что ведет к снижению интенсивности трансдукции сигнала от мембраны в клетку [62].

Эффекты действия электроболевого раздражения (ЭБР) на функции иммунной системы изучаются много лет [57, 63], но попытка анализа центральных механизмов развития стресс-индуцированного снижения интенсивности иммунного ответа предпринята впервые [4]. Поскольку количество с-Fos-позитивных клеток в гипоталамических структурах у контрольных животных после введения физиологического раствора, ложного ЭБР или введения физиологического раствора после ЭБР различно, для сравнительной оценки степени активации структур гипоталамуса определяли относительные коэффициенты активации (ОКА) гипоталамических структур (отношение количества с-Fos позитивных клеток после стрессорирующего воздействия к количеству с-Fos позитивных клеток после иммобилизации без болевого раздражения, введения физиологического раствора). Анализ величин ОКА позволил сравнивать степень активации гипоталамических структур после различных воздействий. Степень относительной активации всех исследуемых гипоталамических структур (AHN, PVH, LHA, DMH, VMH, PH) вызванной ЭБР снижалась после введения ЛПС, причем наиболее выраженные изменения характерны для PVH, LHA-28. Снижение уровня стрессиндуцированной относительной активации гипоталамических структур происходит и после введения БСА, оно наиболее выражено в PVH, LHA, VMH и менее – DMH, PH.



Эти впервые полученные данные демонстрируют особенности взаимодействия нервной и иммунной систем при введении антигена на фоне стресс-индуцированных изменений степени активации гипоталамических структур.

Не только стрессорные стимулы, но и применение медикаментозных средств может быть причиной изменений функций регуляторных систем. Медикаментозная иммуносупрессия – достаточно частое явление в клинической практике, в особенности при применении цитостатиков (ЦФ и др.), являющихся составной частью комплексного лечения злокачественных новообразований и применяемых в трансплантологии. О реакциях мозга на терапию такого рода практически ничего не известно. Действие ЦФ основано на ковалентном алкилировании других молекул – ДНК, РНК, белка [50]. В месте образования алкильных радикалов с ДНК происходит нарушение редупликации и остановка деления клетки. Таким образом, ЦФ останавливает пролиферацию любых быстро делящихся клеток, в том числе иммунокомпетентных, в стадии как митоза, так и интерфазы, оказывая антипролиферативное действие [6]. Вместе с тем низкая избирательность цитостатического эффекта ЦФ сказывается отрицательно на работе нормальных клеток, в том числе вызывая подавление функциональной активности кроветворной и иммунной систем. Циклофосфамид по сравнению с другими цитостатиками обладает меньшей лейкоцитотоксичностью, но вызывает глубокую и продолжительную депрессию эритроидного ростка кроветворения, снижение количества и секреторной активности Т-лимфоцитов костного мозга, гибель Т- и В-лимфоцитов [5]. В то же время эффекты влияния ЦФ на клетки различных структур головного и спинного мозга практически не изучены, хотя функциональные изменения регулирующих структур мозга могут играть существенную роль в механизмах развития побочных эффектов терапии такого рода, в том числе и иммуносупрессии.

Впервые показано, что нейроны гипоталамических структур реагируют на введение ЦФ, возможно, опосредовано, в результате притока информации о процессах, инициированных введением ЦФ на периферии. Однако известно, что метаболиты ЦФ могут проникать через гематоэнцефалический барьер, т. е. оказывать и прямое влияние на клетки мозга [23].

Продемонстрирован дозозависимый эффект в/в введения ЦФ на степень активации гипоталамических структур – VMH и LHA, принимающих, как известно, участие в регуляции цитотоксической активности НК клеток селезенки [69]. Морфометрический анализ клеток этих структур позволил выделить конкретные зоны в VMH и LHA, в которых степень активации была выше, чем в структурах в целом [12].

Таким образом, продемонстрировано, что ЦФ влияет на степень активации определенных структур нервной системы, что, по-видимому, может играть роль в формировании побочных эффектов, характерных для применения цитостатиков.

### ОРЕКСИНСОДЕРЖАЩИЕ НЕЙРОНЫ ГИПОТАЛАМУСА ПРИ ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ АНТИГЕННОЙ И НЕАНТИГЕННОЙ ПРИРОДЫ

Перифорникальная область гипоталамуса в последние десятилетия привлекает внимание исследователей, так как именно в этой зоне гипоталамуса локализована большая часть орексинсодержащих нейронов головного мозга, отростки которых достигают различные структуры мозга, в частности гипоталамуса, и ядер стволовой части мозга, участвующих в регуляции многих вегетативных функций, в том числе и функций иммунной системы. Следует подчеркнуть, что рецепторы к орексинам определены на мембранах не только нейронов различных структур мозга, но и вне ЦНС: на клетках селезенки, надпочечников и стволовых клеток (фенотип CD34+) [60, 70].

Известно, что орексины, являясь нейромедиаторами, принимают участие в модулировании функций нейроэндокринной системы, а нарушение интенсивности синтеза орексинов может приводить к нарушению энергетического обмена, сна, аппетита и других функций [29, 30, 67, 68].

ЛПС-индуцированная активация нейронов показана в структурах мозга, участвующих в регуляции пищевого поведения (центральное ядро амигдалы, LHA, базо-латеральная амигдала) [56], цикла сон/бодрствование (туберомамиллярное ядро) [41], активации ГГН (PVN) [42]. В регуляцию перечисленных функций вовлекается и система орексинсодержащих нейронов [30, 39]. Лишь в единичных исследованиях показаны эффекты введения антигена на систему орексинсодержащих нейронов: через 6 ч после инъекции ЛПС у мышей наблюдалось снижение экспрессии гена *c-Fos* в орексинопозитивных нейронах латеральной гипоталамической области [28].

Об уровне синтеза орексина в нейронах позволяет косвенно судить анализ относительной экспрессии мРНК препроорексина методом ПЦР в режиме реального времени. Увеличение экспрессии мРНК препроорексина зарегистрировано через 2 ч после введения ЛПС в дозе как 25 мкг/кг, так и 500 мкг/кг веса животного. Через 4 и 6 ч после введения ЛПС в обеих дозах уровень экспрессии мРНК препроорексина восстанавливается [20].

Результаты иммуногистохимического анализа содержания орексинов в нейронах свидетельствуют об изменении количества орексинопозитивных клеток через 6 ч после введения ЛПС. Сопоставление результатов оценки интенсивности экспрессии гена методом ПЦР и содержания орексина в соматических клетках иммуногистохимическим методом в динамике позволяет говорить о вовлечении системы орексинсодержащих нейронов в реакции мозга на введение ЛПС и допустить, что, в зависимости от дозы используемого антигена, баланс между синтезом и потреблением орексина может сдвигаться в ту или иную сторону. Вероятно, через 2 ч после введения ЛПС (25 мкг/кг) увеличение количества орексинопозитивных клеток гипоталамуса на фоне возрастания уровня экспрессии мРНК препроорексина свидетельствует о превалировании процесса синтеза, тогда как в последующие часы баланс восстанавливается. Введение субсептической дозы ЛПС (500 мкг/кг) приводит к другому алгоритму событий: в первые часы высокий уровень синтеза, по-видимому, уравнивается уровнем расхода нейропептида, а через 6 ч утилизация орексина превалирует над уровнем синтеза. Использование этих высокоинформативных методов свидетельствует в пользу возможности участия орексинсодержащих нейронов гипоталамуса в реакциях мозга на введение антигена.

Исследование эффектов действия антигена другой природы, БСА, обнаружило сходную картину

реакций орексинсодержащих нейронов на введение ЛПС в низкой дозе (25 мкг/кг) (неопубликованные данные). Учитывая многочисленные проекции орексинсодержащих нейронов практически во все отделы мозга, данные о функциональных изменениях в системе орексинсодержащих нейронов после введения антигенов открывают новые возможности изучения механизмов взаимодействия нервной и иммунной систем и создают предпосылки для разработки методов адресной коррекции патологических процессов.

Исследование участия орексинсодержащих нейронов в механизмах реализации реакций мозга на стрессорные воздействия различной природы является этапом в развитии нового научного направления – изучения участия системы орексинсодержащих нейронов и нейромедиатора орексина в механизмах реализации реакций мозга на стрессорные воздействия. Сочетанное применение методов оценки экспрессии гена препроорексина в клетках гипоталамуса и иммуногистохимического выявления орексина в нейронах перифорникальной гипоталамической области впервые позволило анализировать реакции орексинсодержащих нейронов гипоталамуса крыс на ограничение подвижности и охлаждение. Определен паттерн активации этих нейронов, локализованных в различных структурах гипоталамуса крыс, в процессе реализации реакции мозга на ограничение подвижности и охлаждение (рис. 3) [25]. Данные ПЦР и иммуногистохимического анализа орексинсодер-

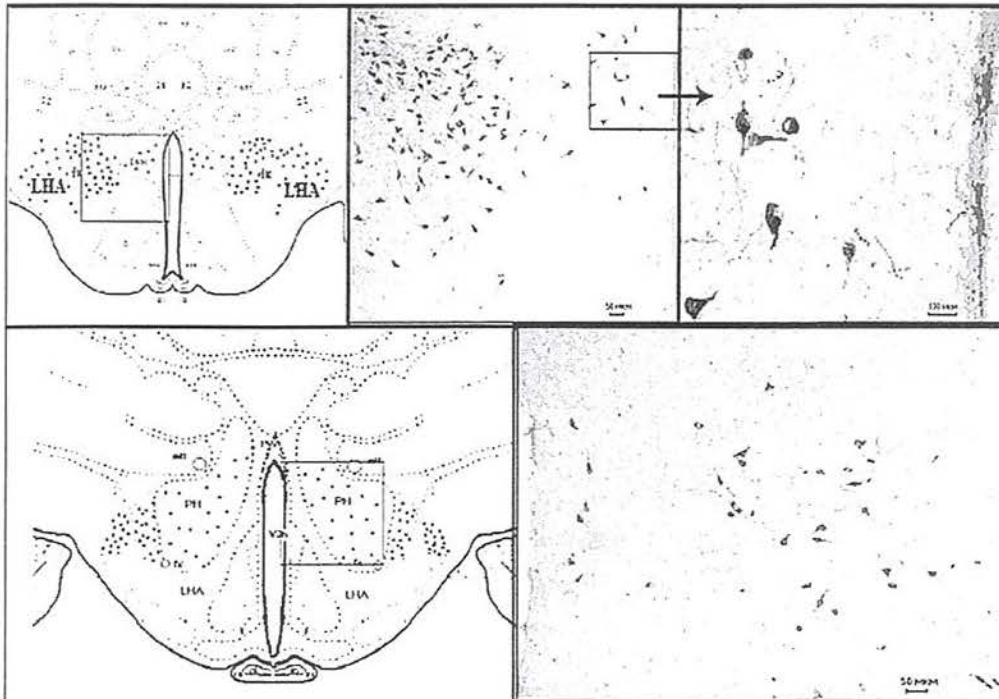


Рис. 3. Локализация орексинсодержащих нейронов в дорзомедиальном ядре гипоталамуса (DMH) (А, Б, В) и заднем гипоталамическом поле (PH) (Г, Д): А, Г – схемы фронтальных срезов мозга с орексинсодержащими нейронами, которые обозначены точками; Б, В, Д – микрофотографии выделенных на схеме зон (Б, Д  $\times 10$ , В  $\times 40$ ). А, Б, В – срез мозга, 28 уровень; Г, Д – срез мозга, 31 уровень



жащих нейронов гипоталамуса свидетельствуют об участии этих нейронов в реакциях мозга на психоэмоциональный стресс (ограничение подвижности). Выявлено, что холодовое воздействие ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) нивелирует изменения активации орексинсодержащих нейронов, вызванные ограничением подвижности крыс. На фоне высокого уровня экспрессии мРНК препроорексина в конкретных зонах гипоталамуса, в которых расположено небольшое количество нейронов относительно всей популяции, наблюдалось снижение или увеличение количества орексин-позитивных нейронов в этих структурах (рис. 4), что можно расценивать как результат изменения баланса между уровнем синтеза и расхода орексина.

Таким образом, впервые определены структуры и зоны гипоталамуса крыс, в которых наблюдаются

изменения, обусловленные, по-видимому, нарушением баланса синтеза и утилизации орексина А в орексинсодержащих нейронах после введения антигенов, ограничения подвижности и охлаждения.

### ЭКСПРЕССИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 В КЛЕТКАХ МОЗГА ПРИ ВВЕДЕНИИ АНТИГЕНОВ

Клетки нервной, эндокринной и иммунной систем не только отвечают на действие многих регуляторных молекул – нейромедиаторов (стероидных гормонов, нейропептидов и цитокинов), но и экспрессируют многие из них, что обеспечивает молекулярную основу интеграции нейроэндокринных и иммунных реакций, инициированных различными воздействи-

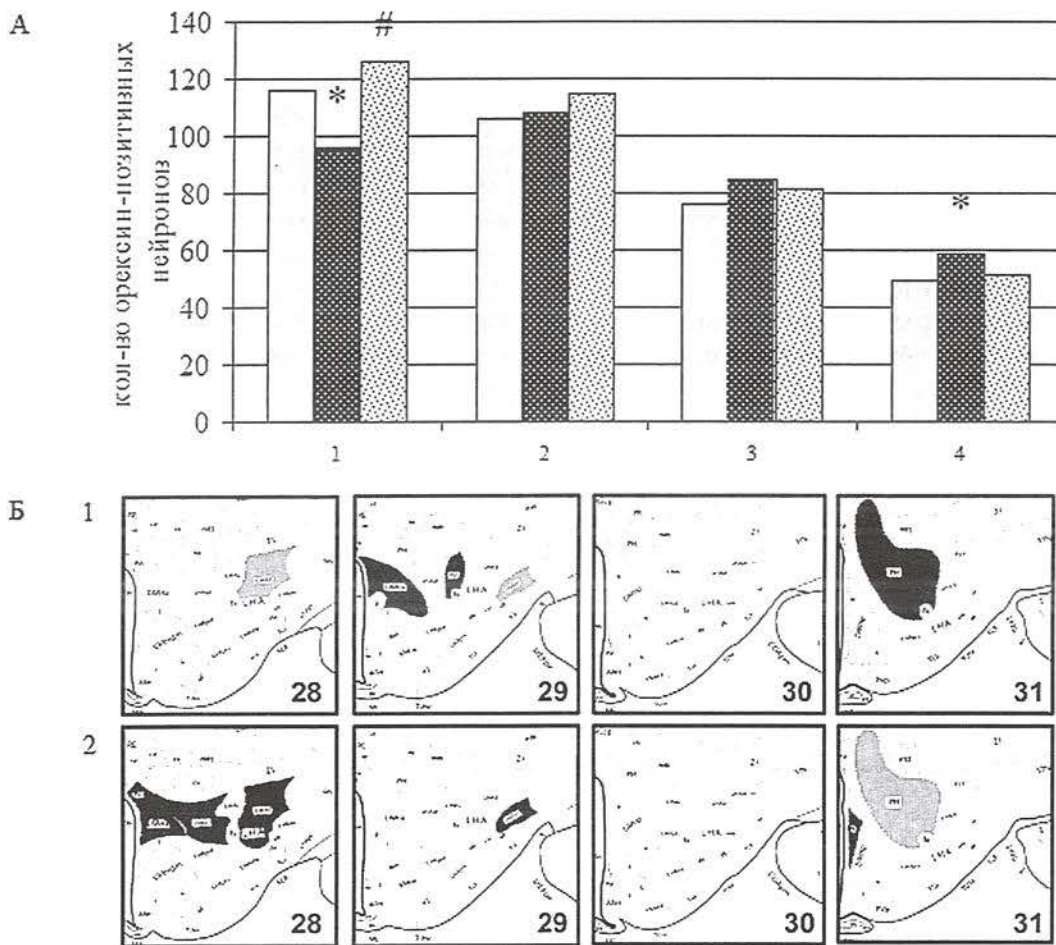


Рис. 4. Изменение иммунореактивности орексин-позитивных нейронов в структурах гипоталамуса и их зона крыс после ограничения подвижности и охлаждения: А – количество орексин-позитивных нейронов на срезах определенных уровней мозга: 1–28; 2–29; 3–30; 4–31.

Группы животных:

□ – интактные, ▨ – после ограничения подвижности, ▩ – после ограничения подвижности и охлаждения.

\* –  $P < 0,01$  по отношению к интактным животным; # –  $P < 0,01$  по отношению к животным после ограничения подвижности.

Б – схемы мозга соответствующих уровней с обозначением зон и структур, в которых изменялось количество орексин-позитивных нейронов после стрессорирующих воздействий: 1 – ограничение подвижности; 2 – ограничения подвижности и охлаждения. Структуры:

▨ – увеличение, □ – уменьшение количества орексин-позитивных нейронов



ями. Интерлейкин-1 (ИЛ-1) – первый из открытых и охарактеризованных интерлейкинов, один из ключевых регуляторов защитных функций организма, инициирующий каскад процессов, приводящих к активации как врожденного, так и приобретенного иммунитета [13].

Определение экспрессии гена ИЛ-1 в клетках различных структур мозга послужило началом изучения роли цитокинов мозга в обеспечении взаимодействия между нервной и иммунной системами [62]. Позднее была показана и экспрессия ИЛ-2 в нейронах [3]. Известно, что введение ИЛ-2 стимулирует выход кортикотропин-релизинг фактора [44], ацетилхолина [58] и дофамина [26] из клеток ЦНС, может приводить к появлению психиатрических и неврологических форм патологии, напоминающих симптомы ряда заболеваний (болезнь Альцгеймера, рассеянный склероз, шизофрения, депрессия) [55]. Молекулы ИЛ-2 проникают через гематоэнцефалический барьер [35]. Комплекс проведенных исследований позволил получить новые данные, свидетельствующие об экспрессии ИЛ-2 мРНК и синтезе соответствующего белка в лимфоцитах и клетках мозга. Использование двухфазной водно-полимерной системы, позволяющей фиксировать индуцируемые низкомолекулярными пептидами изменения конформации мембран клеток [45], позволило предположить существование по крайней мере двух вариантов регуляции экспрессии гена ИЛ-2 в лимфоцитах и нейронах. Каждый тип клеток может синтезировать белковые факторы, активирующие транскрипцию самостоятельно, и, возможно, существует секреция и транспорт низкомолекулярных белков (14, 18, 19 кДа) как в иммунной, так и в нервной системах. Для исследования экспрессии генов *c-fos* и ИЛ-2 в клетках нервной и иммунной систем [3] применен информативный метод *in situ* гибридизации, позволяющий выявлять локализацию ИЛ-2 мРНК позитивных клеток. Известно, что ротационный стресс оказывает модулирующее воздействие на процессы, протекающие в клетках головного мозга и лимфоцитах селезенки. Экспрессия *c-fos* и ИЛ-2 мРНК в головном мозге в этих условиях обнаружена преимущественно в клетках гипоталамуса, таламуса и моторной коры.

мРНК-ИЛ-2-позитивные клетки при введении антигена (столбнячного анатоксина) определены в небольшом количестве в VMH, DMH и RH через 2 ч после введения антигена и в PVH через 6 ч. Доказано, что экспрессия гена ИЛ-2 после введения анатоксина происходит лишь в некоторых структурах гипоталамуса, в которых отмечена индукция транскрипции мРНК *c-fos* и синтеза *c-Fos* белка. Следует подчеркнуть, что индукция синтеза ИЛ-2 мРНК в клетках различных структур гипоталамуса после в/в введения столбнячного анатоксина характеризуется

определенной последовательностью динамики индукции синтеза: *c-fos* мРНК, *c-Fos*-подобного белка и ИЛ-2 мРНК. Интенсивность синтеза ИЛ-2 мРНК значительно ниже, чем *c-fos* мРНК и *c-Fos*-подобного белка, поскольку синтезирующийся белок *c-Fos* является трансактивирующим фактором не только гена ИЛ-2, но и других индуцибельных генов [8].

Полученные данные позволяют предположить, что ИЛ-2 может участвовать в механизмах реализации реакций мозга на введение антигена и процессах взаимодействия нервной и иммунной систем [47], но количество ИЛ-2 продуцирующих клеток, вовлеченных в этот процесс, относительно невелико.

### КОРРЕКЦИЯ РЕАКЦИЙ МОЗГА НА ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Разработка новых методов профилактики и лечения различных заболеваний, основанных на использовании стимулов химической и физической природы, оказывающих модулирующее действие на функции иммунной и нервной систем и их взаимодействие, – одно из перспективных направлений развития современной медицины. Гормоны (кортикостероидные и пептидные) являются факторами, в числе других реализующими передачу модулирующих сигналов от ЦНС к иммунной. Так, релизинг фактор лютеинизирующего пептидного гормона – люлиберина (LH-RH) оказывает стимулирующее влияние на индуцируемое ИЛ-2 высвобождение кортикотропин-релизинг фактора [44]. Укороченный аналог LH-RH, (синтезированный в Институте высокомолекулярных соединений РАН) при добавлении в культуру спленоцитов мыши линии СВА, активированных Кон А, увеличивает продукцию ИЛ-2 в 4 раза по отношению к контролю [7]. Как выяснилось, этот пептид способен формировать специфический стабильный комплекс с нуклеотидными последовательностями регуляторной области гена ИЛ-2.

Пептиды тимуса, эпифиза, миелопептиды, опиоидные пептиды оказывают влияние на интенсивность иммунного ответа, фагоцитарную и антигенпредставляющую функции макрофагов, а также интенсивность синтеза ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и фактора некроза опухоли [3, 46, 52].

Изучение эффектов действия синтетических пептидов, синтезированных в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН методом классической пептидной химии на основании данных аминокислотного анализа комплексных препаратов эпифиза (эпиталамина) – эпиталон (Alu-Glu-Asp-Gly) и коры головного мозга (кортексина) – кортаген (Ala-Glu-Asp-Pro) [24] привело к раскры-

тию ранее неизвестных возможностей коррекции функций иммунной и нервной систем.

Анализ экспрессии гена немедленного и раннего ответа ИЛ-2 в лимфоидных клетках и нейронах после аппликации нейропептидов позволил уже на самых ранних стадиях активации генома регистрировать изменения, возникающие под влиянием этих биологически активных веществ, и оценить возможность их использования для коррекции определенных нарушений функций нервной и иммунной систем [47, 65]. Определение методом *in situ* гибридизации в структурах гипоталамуса количества клеток, экспрессирующих мРНК ИЛ-2 после введения пептидов (вилона, эпиталона и кортагена), свидетельствует об определенной избирательности действия коротких пептидов на изменение уровня транскрипции мРНК ИЛ-2 в клетках различных структур гипоталамуса [7]. Количество ИЛ-2-позитивных клеток в гипоталамических структурах снижается в передней (АНН) и латеральной (ЛНА) гипоталамических областях и паравентрикулярном ядре гипоталамуса (РВН) только после введения эпиталона, что коррелирует с увеличением количества с-Fos-позитивных клеток в данных структурах гипоталамуса. Сопоставление результатов исследований экспрессии генов с-fos, ИЛ-2 и синтеза данного цитокина клетками гипоталамуса позволяет предположить, что уменьшение количества ИЛ-2-позитивных клеток может быть обусловлено изменением баланса между процессами синтеза и потребления белка в сторону его потребления [2].

Таким образом, анализ экспрессии гена раннего ответа ИЛ-2 в лимфоидных клетках и нейронах после аппликации пептидов (вилона, эпиталона) позволил регистрировать изменения, возникающие под влиянием этих биологически активных веществ, уже на самых ранних стадиях активации генома и оценить возможность их использования для коррекции определенных нарушений функций нервной и иммунной систем [48].

Широко применяемым методом терапии является облучение кожи электромагнитными волнами крайне высокой частоты (КВЧ-облучение), которое продлевает действие анестезии [61], оказывает анальгезирующий эффект [59] и активизирует функции иммунной системы [15], в том числе и при стрессиндуцированной иммуносупрессии [16].

Авторы полагают, что облучение миллиметровыми волнами способствует высвобождению эндогенных опиоидов или увеличивает активность передачи сигналов через опиоидные рецепторы [51].

Несмотря на интенсивные исследования эффектов действия облучения кожи волнами миллиметрового диапазона в медицинской практике, механизмы реализации этих эффектов в организме оставались неясными.

Изучение степени активации клеток головного мозга, в частности гипоталамуса, как центрального звена регуляции вегетативных функций, имеющего широкие двусторонние связи с другими отделами головного и спинного мозга [1], является информативным методом изучения механизмов действия КВЧ-облучения кожи.

При КВЧ-облучении кожи в верхней части голени (ниже и латеральнее коленного сустава) задних лап крыс констатирована активация нейронов в поясничных спинномозговых ганглиях симпатического ствола, сером веществе спинного мозга: боковых рогов и 10-й пластине Рекседа. Наибольшее количество с-Fos-позитивных клеток выявлено в 1–3 пластинах задних рогов, причем преимущественно активируются клетки малых размеров [19].

При таком воздействии возрастает количество с-Fos-позитивных клеток во всех исследованных структурах гипоталамуса, но с наибольшей степенью – в перифорникальной области ЛНА.

КВЧ-облучение кожи крыс, применяемое без дополнительного раздражающего воздействия, оказывает стимулирующее действие на клетки гипоталамуса и может рассматриваться как слабое стрессорное воздействие [54].

Аналогичное воздействие на фоне болевого стресса ведет к снижению степени стрессиндуцированной активации нейронов только в определенных структурах гипоталамуса: АНН, VMH, ЛНА (субфорникальной вентральной части ЛНА) [17, 18].

Следует отметить, что для понимания механизмов действия КВЧ-облучения кожи важным является идентификация не только количества с-Fos-позитивных клеток в структурах гипоталамуса, но и их типов. Ранжирование активированных нейронов, согласно размерам их площади с последующим определением процента от общего количества с-Fos-позитивных клеток в данной структуре гипоталамуса, позволило показать, что КВЧ-облучение кожи отменяет характерный для реакций мозга на электроболевое раздражение паттерн распределения клеток по их размерам только в субфорникальной вентральной части ЛНА (рис. 5).

Следует подчеркнуть, что после КВЧ-облучения кожи степень снижения активации гипоталамических структур коррелирует с частичным восстановлением стрессиндуцированного снижения цитотоксической активности НК клеток селезенки [63], что позволяет разработать критерии применения КВЧ-облучения кожи снижения степени иммуносупрессии, в частности при противоопухолевой терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнение результатов молекулярно-клеточного анализа реакций нервной системы на дестабилизиру-



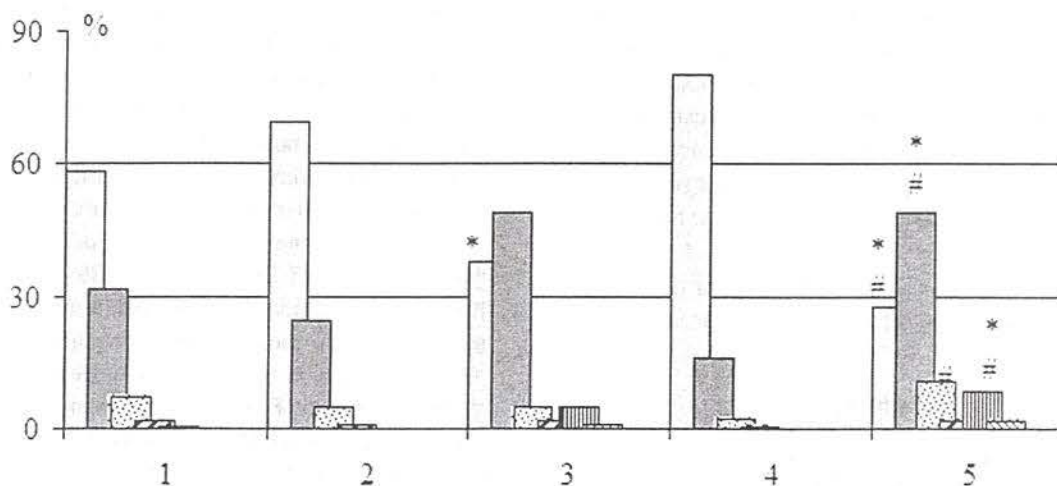


Рис. 5. Распределение c-Fos-положительных клеток, ранжированных по размеру их площади, в вентральной части ЛНА крыс после электрошокового раздражения и КВЧ-облучения кожи.

% c-Fos-положительных клеток определенного класса по отношению к общему количеству c-Fos-положительных клеток в конкретной структуре, принято за 100%.

По оси абсцисс – группы экспериментальных животных: 1 – интактные; 2 – после ограничения подвижности; 3 – после КВЧ-облучения кожи, 4 – после электрошокового раздражения, 5 – после КВЧ-облучения до и после электрошокового раздражения.

\* –  $P < 0,05$  по сравнению с ложнооблученными, # –  $P < 0,05$  по сравнению с электрошоковым раздражением.

Классы ранжированных c-Fos-положительных согласно размеру площади клеток (мкм<sup>2</sup>):

□ – 10–30, ■ – 30–50, ▨ – 50–70, ▩ – 70–90, ▒ – 90–110, ▓ – 110–130

ющие воздействия антигенной и неантигенной природы позволило установить ряд ранее неизвестных закономерностей. Как выяснилось в результате анализа активации клеток гипоталамических структур, одни структуры, а именно: ЛНА и РН, активируются при действии любых примененных сигналов, другие – SO, Агс – только при действии определенных стимулов (болевого, психоэмоциональный). Важно подчеркнуть, что паттерн (алгоритм) реакций структур мозга на примененные воздействия, который отражает не только факт локализации активированных структур, но и интенсивность их реакции, характерен для ответа мозга на конкретное воздействие. Особое значение для выявления и понимания этих различий имеет определение не только количества активированных клеток, но и интенсивности реакции каждого нейрона (по оптической плотности окраски), а также типов нейронов (по их размерам), отвечающих на воздействия антигенной или неантигенной природы. Сочетанный анализ комплекса этих изменений позволяет утверждать, что алгоритм реакций мозга на предъявленный сигнал характерен именно для реакций мозга на данное раздражение.

Как известно, К. Kovács [48], на основании анализа количества и распределения c-Fos-положительных клеток в различных отделах мозга, также пришла к заключению о «специфичности» реакций мозга на определенные стрессорирующие стимулы. Гипоталамус, как сложноорганизованная область мозга, не подвергается специальному анализу. Изучение ко-

личества активированных нейронов и качественная характеристика процесса позволили выявить ранее неизвестные компоненты этих реакций и продемонстрировать выраженность их различий. Особенно важно обнаружение дифференцированных реакций мозга на введение антигенов различной природы и зависимость наблюдаемых в мозге изменений от количества введенного чужеродного агента. Последнее лишь еще раз подтверждает известную физиологическую закономерность о зависимости интенсивности реакции от силы примененного воздействия. Но чем обусловлены различия реакций мозга на антигены различной природы? В общем виде можно утверждать, что они связаны с различием поступающей в мозг информации. Какова эта информация? Этот вопрос остается открытым, но уже само возникновение его на основе реальных фактов – достаточно значимое событие, поскольку инициирует развитие направления исследований, слабо представленных в литературе, а именно: необходимость изучения афферентных механизмов поступления сигналов от иммунной системы к нервной, в том числе при введении антигенов.

Известно, что при поступлении антигена в организм чужеродные белки акцептируются антигенпрезентирующими клетками, которые, с одной стороны, преформируют антиген, с другой – синтезируют и выделяют комплекс цитокинов. Может ли полученная мозгом информация определяться этими процессами и веществами? Это один из наиболее

важных вопросов современной иммунофизиологии (нейроиммунобиологии), как научной дисциплины, предметом которой является изучение механизмов взаимодействия нервной и иммунной систем в норме и патологии, а примененная в данном исследовании методология, как и его результаты, является основной, позволяющей осуществлять поэтапное изучение столь сложной задачи.

Работы поддержаны грантами РФФИ: 94-04-11452, 00-04-48996, 03-04-49241, 06-04-49265, 09-04-01055

### Литература

1. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. Нейроиммуноэндокринология гипоталамуса. М.: Медицина, 2003.
2. Барабанова С.В., Артюхина З.Е., Овчинникова К.Т. и др. Сочетанный анализ экспрессии с-Fos белка и интерлейкина-2 в клетках гипоталамуса при различных воздействиях // Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2007. Т. 93. № 2. С. 150–160.
3. Барабанова С.В., Головкин О.И., Новикова Н.С. и др. Влияние стресса на экспрессию индуцибельных генов с-fos и интерлейкина-2 в клетках нервной и иммунной систем // Нейрохимия. 1998. Т. 15. № 4. С. 380–387.
4. Гаврилов Ю.В., Перекрест С.В., Новикова Н.С., Корнева Е.А. Эффекты действия электромагнитного раздражения на интенсивность активации клеток гипоталамических структур, индуцированной введением различных антигенов // Физиол. и патол. иммун. сист. 2007. Т. 11. № 1. С. 3–10.
5. Дядык А.И., Сохин А.А., Синяченко О.В. и др. Хромосомные aberrации при хроническом и туберкулезном гломерулонефрите // Врачебное дело. 1990. № 9. С. 47–49.
6. Казакова Т.Б., Барабанова С.В., Новикова Н.С. и др. Синтез ИЛ-2 мРНК в клетках гипоталамических структур крыс при введении коротких пептидов // Бюл. эксп. биол. мед. 2005. Т. 139. № 6. С. 688–691.
7. Казакова Т.Б., Буров С.В., Головкин О.И. и др. Биологическая активность аналогов пептидного гормона – люлиберина в регуляции иммунного ответа лимфоцитов // Бюл. эксп. биол. мед. 1996. Т. 122. № 9. С. 334–337.
8. Казакова Т.Б., Новикова Н.С., Корнева Е.А. Экспрессия с-fos гена-маркера активации нейрональных клеток в исследовании функций мозга // Патогенез. 2005. № 4. С. 18–28.
9. Клименко В.М., Пуговкин А.П. Морфофункциональная перестройка нервного аппарата лимфоидных органов при электростимуляции гипоталамуса // Бюл. эксп. биол. и мед. 1985. Т. 96. № 6. С. 750–752.
10. Корнева Е.А., Григорьев В.А., Клименко В.М., Столяров И.Д. Электрофизиологические феномены головного мозга при иммунных реакциях. Л.: Наука, 1989.
11. Корнева Е.А., Казакова Т.Б., Носов М.А. Экспрессия с-fos мРНК и с-Fos-подобных белков в клетках гипоталамических структур при введении антигена // Аллергол. и иммунол. 2001. Т. 1. № 1. С. 37–44.
12. Корнева Е.А., Новикова Н.С., Абрамова Т.В. и др. Влияние КВЧ-облучения кожи на интенсивность активации клеток гипоталамических структур, индуцированную введением циклофосамида // Нефрология. 2006. Т. 10. № 3. С. 74–79.
13. Корнева Е.А., Рыбакина Е.Г., Шанин С.Н., Казакова Т.Б. Клеточно-молекулярные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем при стрессе // Достижения в области экспериментальной биологии и медицины, ИЭМ на рубеже тысячелетий. СПб.: Наука, 2000. С. 332–353.
14. Корнева Е.А., Шхинек Э.К. Гормоны и иммунная система. Л.: Наука, 1988.
15. Лушников К.В., Гапеев А.В., Чемерис Н.К. Влияние электромагнитного излучения крайне высоких частот на иммунную систему и системную регуляцию гомеостаза // Радиц. биол., радиозкол. 2002. Т. 42. № 5. С. 533–545.
16. Морозов Г.В., Антропов Ю.Ф., Асанова Л.М., Шканов С.М. Лечение невротической депрессии с помощью крайне высоких частот электромагнитного излучения // Журн. неврол. и псих. 1996. Т. 96. № 6. С. 28–31.
17. Новикова Н.С., Казакова Т.Б., Роджерс В., Корнева Е.А. Сравнительный анализ локализации и интенсивности экспрессии с-fos гена в клетках определенных структур гипоталамуса, при механическом и электрическом болевом раздражении // Патогенез. 2004. № 2. С. 73–79.
18. Новикова Н.С., Казакова Т.Б., Роджерс В., Корнева Е.А. Экспрессия с-fos гена в гипоталамусе крыс при электромагнитном раздражении и КВЧ-облучении кожи // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2007. Т. 93. № 3. С. 255–263.
19. Новикова Н.С., Казакова Т.Б., Роджерс В., Корнева Е.А. Экспрессия гена с-fos в клетках спинного и головного мозга крыс под влиянием стресса в условиях применения различных вариантов галотанового наркоза // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2002. Т. 88. № 11. С. 1378–1387.
20. Перекрест С.В., Абрамова Т.В., Новикова Н.С. Сравнительный анализ реакции орексинсодержащих нейронов гипоталамуса крысы при введении различных доз липополисахарида // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2009. Т. 95. № 12. С. 1336–1345.
21. Перекрест С.В., Гаврилов Ю.В., Абрамова Т.В. и др. Активация клеток гипоталамических структур при введении антигенов различной природы (по экспрессии с-fos гена) // Мед. иммунол. 2006. Т. 8. № 5–6. С. 631–636.
22. Поленов А.Л. Гипоталамическая нейросекреция. М., 1971.



23. Телегин Л.Ю., Писарев В.М., Певницкий Л.А. Циклофосфамид усиливает иммунодепрессивное действие своих активных метаболитов // Докл. Акад. наук. 2008. Т. 423. № 3. С. 427–429.
24. Хавинсон В.Х. Способ получения пептидов, обладающих тканеспецифической активностью, и фармацевтические композиции на их основе // Патент РФ № 2161501. 2001.
25. Шаинидзе К.З., Новикова Н.С. Иммунореактивность орексинсодержащих нейронов гипоталамуса крыс при ограничении подвижности и охлаждении // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2009. Т. 95. № 12. С. 1346–1358.
26. Alonso R., Chaudieu I., Diorio J. et al. Interleukin-2 modulates evoked release of [3H] dopamine in rat cultured mesencephalic cells // J. Neurochem. 1993. Vol. 61. P. 1284–1290.
27. Bading H., Ginty D.D. and Greenberg M.E. Regulation of gene expression in hippocampal neurons by distinct calcium signaling pathways // Science. 1993. Vol. 260. P. 181–186.
28. Becskei C., Riediger H., Hernadfalvy D. et al. Inhibitory effects of lipopolysaccharide on hypothalamic nuclei implicated in the control of food intake // Brain. Behav. Immunol. 2008. Vol. 22. № 1. P. 56–64.
29. Besedovsky H.O., Sorkin E., Felix D., Haas H. Hypothalamic changes during the immune response // Eur. J. Immunol. 1977. Vol. 7. № 5. P. 323–325.
30. Beuckmann C.T., Yanagisawa M. Orexin: from neuropeptides to energy homeostasis and sleep/wake regulation // J. Mol. Med. 2002. Vol. 80. № 6. P. 329–342.
31. Brenner G.J., Moynihan J.A. Stressor-induced alterations in immune response and viral clearance following infection with herpes simplex virus-type 1 in BALB/c and C57B1/6 mice // Brain Behav. Immunol. 1997. Vol. 11 № 1. P. 9–23.
32. Bullit E. Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat // J. Comp. Neurol. 1990. Vol. 319. P. 517–530.
33. Charmandari E., Tsigos C., and Chrousos G. Endocrinology of the stress response // Ann. Rev. Physiol. 2005. Vol. 67. P. 259–284.
34. Cecatelli S., Villar M.J., Goldstein M., Hokfelt T. Expression of c-Fos immunoreactivity in transmitter-characterized neurons after stress // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. Vol. 86. P. 9569–9573.
35. de Vries H.E., Kuiper J., de Boer A.G. et al. The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases // Pharmacol. Rev. 1997. Vol. 49. P. 143–149.
36. Elliot J.F., Lin Y., Mizel S.B. Induction of IL-2 messenger RNA inhibited by cyclosporin A // Science. 1984. Vol. 226. P. 1439–1441.
37. Elmquist J.K., Saper C.B. Activation of neurons projecting to the paraventricular hypothalamic nucleus by intravenous lipopolysaccharide // J. Comp. Neurol. 1996. Vol. 374. № 3. P. 315–331.
38. 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. Comp. Neurol. 1996. Vol. 371. № 1. P. 85–103.
39. Espana R.A., Baldo B.A., Kelley A.E., and Berridge C.W. Wake-promoting and sleep-suppressing actions of hypocretin (orexin): basal forebrain sites of action // Neuroscience. 2001. Vol. 106. P. 699–715.
40. 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. 220–229.
41. Gaykema R.P., Park S.M., McKibbin C.R., Goehler L.E. Lipopolysaccharide suppresses activation of the tuberomammillary histaminergic system concomitant with behavior: a novel target of immune-sensory pathways // Neuroscience. 2008. Vol. 152. № 1. P. 273–287.
42. Goehler L.E., Gaykema R.P.A., Hansen K. Staphylococcal enterotoxin B induces fever, brain c-Fos expression, and serum corticosterone in rats // Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. 2001. Vol. 280. P. 1434–1439.
43. Honkaniemi J., Kainu T., Ceccatelli S. et al. Fos and jun rat central amygdaloid nucleus after stress // Mol. Neurosci. 1992. № 3. P. 849–852.
44. Karanth S., Lyson K., Mc Cann S.M. Effects of cholinergic agonists and antagonists on interleukin-2 – induced corticotrophin-releasing hormone release from the mediobasal hypothalamus // NeuroImmunoModulation. 1999. Vol. 6. P. 168–174.
45. Kazakova T.B., Golovko O.I., Gushchin G.V. et al. Transactivation of interleukin-2 gene via the nuclear proteins from spleen and brain cells // Biotechnology Therapeutics. 1993. Vol. 4. № 1.2. P. 63–76.
46. Khavinson V.K., Kvetnoi I.M. Peptide bioregulators inhibit apoptosis // Bull. Exp. Biol. Med. 2000. Vol. 130. P. 1175–1176.
47. Korneva E.A., Kazakova T.B. Interleukin-2 gene expression in central nervous system cells after stress and antigen application // Cytokines in Brain / ed. C. Phelps and E. Korneva. Elsevier B.V. 2008. Chapter 17. P. 353–372.
48. Kova'cs K. c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map // Neurochemistry Int. 1998. Vol. 33. P. 287–297.
49. Li Q., Liang Z., Nakadai A., Kawada T. Effect of electric foot shock and psychological stress on activities of murine splenic natural killer and lymphokine-activated killer cells, cytotoxic T lymphocytes, natural killer receptors and mRNA transcripts for granzymes and perforin // Int. J. on the Biol. of Stress, Taylor & Francis. 2005. Vol. 8. № 2. P. 107–116.
50. Makar V.R., Logani M.K., Bhanushalt et al. Effect of cyclophosphamide and 61.22 GHz millimeter waves on T-cell, B-cell, and macrophage functions // Bioelectromagnetics. 2006. Vol. 27. № 6. P. 458–466.

51. 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.
52. Matsumoto I., Oomura Y., Nijima A. et al. Acidic fibroblast growth factor activates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in rats // *Am. Physiol. Soc.* 1998. P. 503–509.
53. Nosov M.A., Barabanova S.V., Glushikhina M.S. et al. Antigen-induced activation of hypothalamic cells (assessed by expression of the c-fos gene) // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2002. Vol. 32. P. 523–528.
54. Novikova N.S., Perekrest S.V., Rogers V., Korneva E.A. Morphometric analysis of hypothalamic cells expressing c-Fos gene after exposure to movement restriction and EHF-irradiation // *J. Pathophysiology.* 2008. Vol. 15. P. 19–24.
55. Orandle M.S., Williams K.C., MacLean A.G. et al. Macaques with rapid disease progression and simian immunodeficiency virus encephalitis have a unique cytokine profile in peripheral lymphoid tissues // *J. Virol.* 2001. Vol. 75. P. 4448–4452.
56. Park S.M., Gaykema R.P., and Goehler L.E. How does immune challenge inhibit ingestion of palatable food? Evidence that systemic lipopolysaccharide treatment modulates key nodal points of feeding neurocircuitry // *Br. Behav. Immunol.* 2008. Vol. 22. № 8. P. 1160–1172.
57. Persoons J.H., Berkenbosch F., Schornagel K. et al. Increased specific IgE production in lungs after the induction of acute stress in rats // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995. Vol. 95. № 3. P. 765–770.
58. Quirion R., Araujo D.M., Lapch P.A. et al. Growth factors and lymphokines modulators of cholinergic neuronal activity // *Can. J. Neuron. Sci.* 1991. Vol. 18. P. 390–393.
59. Radziewsky A.A., Ziskin M.C. Peripheral neural system involvement in hypoalgesic effect of electromagnetic millimeter-waves // *Life Sci.* 2001. Vol. 68. P. 116–251.
60. Randeve H.S., Karteris E., Grammatopoulos D. and 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. Metab.* 2001. Vol. 86. P. 4808–4813.
61. Rojavin M.A., Cowan A., Radziewsky A.A., Ziskin M.C. Antipruritic effect of millimeter-waves in mice: evidence for opioid involvement // *Life Sci.* 1998. Vol. 63. № 18. P. 251–257.
62. Rybakina E.G., Korneva E.A. Interleukin-1 Signal Transduction via the Sphingomyelin // *Cytokines and the Brain Pathway in Brain Cells* / Ed. C. Phelps and E. Korneva. Elsevier B.V. 2008. Chapter 5. P. 79–91.
63. Shanin S.N., Rybakina E.G., Novikova N.N. et al. Natural killer cell cytotoxic activity and c-Fos protein synthesis in rat hypothalamic cells after painful electric stimulation of the hind limbs and EHF irradiation of the skin // *Med. Sci. Monit.* 2005. Vol. 11. № 9. P. 309–315.
64. Shurin M.R., Kusnecov A.W., Riechman S.E., and Rabin B.S. Effect of a conditioned aversive stimulus on the immune response in three strains of rats // *Psychoneuroendocrinology.* 1995. Vol. 20. № 8. P. 837–849.
65. Swanson L.W. Brain maps III. Structure of the rat brain. 3rd rev ed. San-Diego, Cal. USA: Elsevier acad press, 2004.
66. Vacca A., Felli M., Farina A.R. et al. Glucocorticoid receptor-mediated suppression of the interleukin 2 gene expression through impairment of the cooperativity between nuclear factor of activated T cells and AP-1 enhancer elements // *J. Exp. Med.* 1992. Vol. 175. P. 637.
67. Van den Pol A.N., Gao X.-B., Obrietan K. et al. Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin orexin // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18. № 19. P. 7962–7971.
68. Watanabe S., Kuwaki T., Yanagisawa M. et al. Persistent pain and stress activate pain-inhibitory orexin pathways // *Neuroreport.* 2005. Vol. 16. № 1. P. 5–8.
69. Wenner M., Kawamura N., Ishikawa T. Reward linked to increased natural killer cell activity in rats // *Neuro-ImmunoModulation.* 2000. Vol. 7. P. 1–5.
70. 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. P. 81–87.
71. Ziskin M. Physiological mechanisms underlying millimeter wave therapy // *In Bio electromagnetics: Current concepts* / S. Ayrapetyan and M. Markov (Eds.). Nato Science Series^ Springer Press. The Netherlands, 2006. P. 241–251.