



РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. А. И. ГЕРЦЕНА
HERZEN STATE PEDAGOGICAL UNIVERSITY of RUSSIA

ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ им. И. П. ПАВЛОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
PAVLOV INSTITUTE of PHYSIOLOGY, RUSSIAN ACADEMY of SCIENCES

ISSN 0000-0000

**ИНТЕГРАТИВНАЯ
ФИЗИОЛОГИЯ**

INTEGRATIVE PHYSIOLOGY

T. 1 № 1 2020

Vol. 1 No. 1 2020



Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена
Институт физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук
Herzen State Pedagogical University of Russia
Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences

intphysiology.ru
ISSN ****_**** (online)
DOI 10.33910/****_****-2020-1-1
2020. Том 1, № 1
2020. Vol. 1, no. 1

Интегративная физиология Integrative Physiology

Свидетельство о регистрации СМИ ЭЛ № ФС 77 – 75141
Рецензируемое научное издание
Журнал открытого доступа
Учрежден в 2019 году
Выходит 4 раза в год

Registration certificate EL No. FS 77 – 75141
Peer-reviewed journal
Open Access
Published since 2019
4 issues per year

Редакция

Главный редактор
Л. П. Филаретова (Санкт-Петербург, Россия)
Заместитель главного редактора
Е. А. Никитина (Санкт-Петербург, Россия)
Ответственный редактор
О. А. Любашина (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Team

Editor-in-chief
Lyudmila P. Filaretova (St Petersburg, Russia)
Deputy Editor-in-chief
Ekaterina A. Nikitina (St Petersburg, Russia)
Executive Editor
Olga A. Lyubashina (St Petersburg, Russia)

Редакционная коллегия

В. Г. Александров (Санкт-Петербург, Россия)
Н. М. Бажан (Новосибирск, Россия)
Б. Боназ (Гренобль, Франция)
А. Б. Буравкова (Москва, Россия)
Т. Д. Власов (Санкт-Петербург, Россия)
Дж. Вуд (Колумбус, США)
Н. В. Гуляева (Москва, Россия)
Д. Джебцова (Братислава, Словакия)
Н. Н. Дыгало (Новосибирск, Россия)
Н. А. Дюжикова (Санкт-Петербург, Россия)
И. Жданова (Бостон, США)
Д. Зелена (Печ, Венгрия)
Б. Мачадо (Сан-Паулу, Бразилия)
М. П. Мошкин (Новосибирск, Россия)
П. Е. Мусяненко (Санкт-Петербург, Россия)
М. Покорский (Варшава, Польша)
Е. А. Рыбникова (Санкт-Петербург, Россия)
Ш. Сабо (Ирвайн, США)
К. Такеучи (Киото, Япония)
И. Таш (Лос-Анджелес, США)
П. Фердинанди (Сегед, Венгрия)
Ю. Е. Шелепин (Санкт-Петербург, Россия)

Editorial Board

Vyacheslav G. Aleksandrov (St Petersburg, Russia)
Nadezhda M. Bazhan (Novosibirsk, Russia)
Bruno Bonaz (Grenoble, France)
Lyudmila B. Buravkova (Moscow, Russia)
Timur D. Vlasov (St Petersburg, Russia)
Jackie Wood (Columbus, USA)
Natalia V. Gulyaeva (Moscow, Russia)
Daniela Jezova (Bratislava, Slovakia)
Nikolai N. Dygalo (Novosibirsk, Russia)
Natalya A. Duzhikova (St Petersburg, Russia)
Irina V. Zhdanova (Boston, USA)
Dora Zelena (Pécs, Hungary)
Benedito Machado (São Paulo, Brazil)
Mikhail P. Moshkin (Novosibirsk, Russia)
Pavel E. Musienko (St Petersburg, Russia)
Meiczyslaw Pokorski (Warsaw, Poland)
Elena A. Rybnikova (St Petersburg, Russia)
Sandor Szabo (Irvine, USA)
Koji Takeuchi (Kyoto, Japan)
Yvette Tache (Los Angeles, USA)
Peter Ferdinandy (Szeged, Hungary)
Yuri E. Shelepin (St Petersburg, Russia)

Издательство РГПУ им. А. И. Герцена
191186, г. Санкт-Петербург, наб. реки Мойки, д. 48
E-mail: izdat@herzen.spb.ru
Телефон: +7 (812) 312-17-41

Publishing house of Herzen State Pedagogical
University of Russia
48 Moyka Emb., St Petersburg, Russia, 191186
E-mail: izdat@herzen.spb.ru
Phone: +7 (812) 312-17-41

Объем 13,4 Мб
Подписано к использованию 24.01.2020

Published at 24.01.2020

При использовании любых фрагментов ссылка на журнал
«Интегративная физиология» и на авторов материала
обязательна.

The contents of this journal may not be used in any way without
a reference to the journal “Integrative Physiology” and the author(s)
of the material in question.

Редактор И. Л. Климович
Редактор английского текста И. А. Наговицына
Оформление обложки О. В. Рудневой
Верстка Д. В. Лаптухиной

Санкт-Петербург, 2020
© Российский государственный педагогический университет
им. А. И. Герцена, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие главного редактора	4
Обзоры	5
<i>Wood J. D.</i> Autonomic brain in the gut	5
<i>Громова Л. И.</i> «Фабрика желудочного сока» в лабораториях И. П. Павлова.	11
<i>Somogyi A.</i> Ivan Pavlov and Hans Selye: Two physiologists of towering historic reput	21
<i>Ярушкина Н. И.</i> Стресс-вызванная анальгезия: роль гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы.	23
<i>Зенько М. Ю., Рыбникова Е. А.</i> Фармакологическое прекондиционирование	32
<i>Журавлев А. В., Никитина Е. А., Савватеева-Попова Е. В.</i> Роль кинуренинов в регуляции поведения и процессов памяти у дрозофилы.	40
Экспериментальные статьи	51
<i>Александров В. Г., Губаревич Е. А., Данилова Г. А., Туманова Т. С.</i> Моделирование синдрома системного воспалительного ответа на анестезированных крысах.	51
<i>Пантелеев С. С., Сиваченко И. Б., Любашина О. А., Медведев Д. С., Соколов А. Ю.</i> Эффекты электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на нейрональную активность спинального ядра тройничного нерва крысы.	61
Краткие сообщения.	72
<i>Takeuchi K.</i> Influence of adrenalectomy on protective effects of urocortin I, a corticotropin-releasing factor (CRF)-related peptide, against indomethacin-induced enteropathy in rats.	72
<i>Shaburova E. V., Lanshakov D. A.</i> Effects of ketamine and stress on the neurotrophin receptors expression.	75

CONTENTS

A word of salutation by the Editor-in-chief	4
Reviews.....	5
Wood J. D. Autonomic brain in the gut	5
Gromova L. I. Ivan Pavlov's laboratories: The factory of gastric juice.....	11
Somogyi A. Ivan Pavlov and Hans Selye: Two physiologists of towering historic repute.....	21
Yarushkina N. I. Stress-induced analgesia: The role of the HPA axis hormones	23
Zenko M. Yu., Rybnikova E. A. Pharmacological preconditioning.....	32
Zhuravlev A. V., Nikitina E. A., Savvateeva-Popova E. V. Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in <i>Drosophila</i>	40
Experimental articles	51
Aleksandrov V. G., Gubarevich E. A., Danilova G. A., Tumanova T. S. Simulation of the systemic inflammatory response syndrome in anesthetized rats	51
Pantelev S. S., Sivachenko I. B., Lyubashina O. A., Medvedev D. S., Sokolov A. Yu. Effects of electromagnetic millimeter waves on the neuron activity of the spinal trigeminal nucleus of the rat.	61
Short communications	72
Takeuchi K. Influence of adrenalectomy on protective effects of urocortin I, a corticotropin-releasing factor (CRF)-related peptide, against indomethacin-induced enteropathy in rats.....	72
Shaburova E. V., Lanshakov D. A. Effects of ketamine and stress on the neurotrophin receptors expression.....	75

Приветствие главного редактора

Глубокоуважаемые коллеги!

Первый номер журнала «Интегративная физиология» выходит вслед за празднованием 170-летия со дня рождения академика И. П. Павлова, первого российского лауреата Нобелевской премии, который по праву признается основателем интегративной физиологии.

В международном масштабе XXI век — век биомедицины. Науки о жизни — в центре внимания мирового научного сообщества. Физиология, нацеленная на получение знаний о функционировании организма в здоровье и болезни, по своей значимости должна занимать центральное место среди биомедицинских наук. Именно физиология является основой медицины, без ее успешного развития трудно представить прогресс в медицине. Интегративная физиология нацелена на понимание, каким образом каждый компонент организма работает как часть, интегрированная в функционирование организма как единого целого, в здоровье и болезни.

Однако, некогда очень крепкие, позиции физиологии существенно ослабли во второй половине XX века, что является проблемой мирового масштаба. В связи с этим Международный союз физиологических наук (International Union Physiological Sciences, IUPS) на своем последнем Физиологическом конгрессе (IUPS конгресс) в Рио-де-Жанейро в 2017 году «бил в набат», провозглашая девиз «Return PHYSIOLOGY to center stage», согласно которому физиология должна вернуться на центральную позицию. Редколлегия журнала солидарно с IUPS выступает за укрепление позиций физиологии. Мы надеемся, что наш журнал «Интегративная физиология» будет этому укреплению способствовать.

С большим удовольствием приветствую читателей первого номера журнала «Интегративная физиология» и выражаю надежду на получение рукописей, содержащих новые знания о физиологических процессах организма, ярко иллюстрирующих значимость физиологии для медицины, биологии, здравоохранения, которые будут способствовать укреплению ключевой позиции физиологии в науках о жизни и, в конечном счете, укреплению здоровья человека.

С благодарностью ко всем, кто сделал реальностью выпуск первого номера журнала «Интегративная физиология».

*С уважением,
главный редактор
А. П. Филаретова*

UDC 612.338

DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-5-10

Autonomic brain in the gut

J. D. Wood✉¹

¹ The Ohio State University College of Medicine Columbus, 304 Hamilton Hall, 1645 Neil Avenue, Columbus, OH 43210, USA

Author

Jackie D. Wood,
Scopus AuthorID: 35571627800,
e-mail: Jackie.wood@osumc.edu

For citation: Wood, J. D. (2020) Autonomic brain in the gut. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 5–10. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-5-10

Received 18 August 2019; reviewed 27 August 2019; accepted 27 August 2019.

Copyright: © The Author (2020).
Published by Herzen State
Pedagogical University of Russia.
Open access under CC BY-NC
License 4.0.

Abstract. The enteric nervous system (ENS) is an autonomic “brain-in-the-gut” that integrates gastrointestinal motility, secretion and blood flow into homeostatic patterns of gut behavior. Experimental models for the ENS are the same as for all independent integrative nervous systems, whether in the vertebrate brain and spinal cord or in invertebrate animals. The ENS coordinates and organizes the behavior of the musculature, secretory glands and vascular system, in each of the specialized organs of the gastrointestinal tract, into meaningful behavior of each organ. The ENS stores a library of programs for differing patterns of small and large intestinal adaptive behaviors. Programs in the library are akin to 21st century digital “apps” that run on smart phones, tablet computers and comparable devices.

Keywords: neurogastroenterology, enteric nervous system, paracrine signaling, ileus, emesis, power propulsion, postprandial motility, interdigestive motility, gut defense, neural program library.

Introduction

The digestive tract is innervated by the autonomic nervous system and by sensory nerves that project from the gut to the brain stem and spinal cord. Three divisions of the autonomic nervous system innervate the digestive tract. Sympathetic, parasympathetic and enteric divisions make-up the autonomic innervation of the gut.

The enteric division, enteric nervous system (ENS), functions as an involuntary “brain-in-the-gut” that integrates gastrointestinal motility, secretion and blood flow into homeostatic patterns of gut behavior. Early electrophysiological evidence led to designating the ENS as a brain-in-the-gut for the first time in 1981 (Wood 1981). The heuristic model for the ENS is the same as for all independent integrative nervous systems, whether in brains and spinal cords of vertebrates or in invertebrates, such as the highly developed brain of the octopus (Sumbre et al. 2001). The octopus brain communicates with an independent neuronal plexus in each tentacle that is analogous to the ENS and provides integrative control for targeted movements of the tentacles in the capture of prey (Sumbre et al. 2001). The ENS, like the little brains in octopus tentacles, is an independent nervous system that coordinates and organizes the behavior of the musculature,

secretory glands and vascular system, in each of the specialized organs of the gastrointestinal tract, into functional adaptive behavior in the series spacing of organs from esophagus to large intestine.

On the advice of his major professorial mentor, C. Ladd Prosser, the author began electrophysiological recording from neurons in feline ENS in 1967, with first results published in 1969 and 1970 (Wood 1970; Wood 1973; Wood 2016). Simultaneously, in the 1970s, electrophysiological studies of neurons in the ENS were done at the Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences in St. Petersburg, Russia (Nozdrachev 1977; Nozdrachev et al. 1975a; Nozdrachev et al. 1977; Nozdrachev, Vataev 1981; Gnetov, Kachalov 1975a; Gnetov, Kachalov 1975b). The researchers at the Pavlov Institute were the first to record from neurons in the myenteric division of the ENS in situ with blood flow intact (Nozdrachev et al. 1975b; Gnetov, Kachalov 1975a; Gnetov, Kachalov 1975b).

Hierarchal neurophysiological organization

We now understand in 2019 that in the ENS, like most integrative nervous systems, the components are organized in hierarchal physiological order. Like most central nervous systems, neurophysiology of the ENS is organized in hierarchical

steps from lower to higher levels of physiological complexity (Wood 1989; Wood 2012; Wood 2018). Axonal projections out of the hierarchical order to gastrointestinal effector systems determine minute-to-minute behavior of the muscularis externa, mucosal secretory glands and blood vasculature in the behaving gut. Integrated behavior of the musculature and secretory glands takes place as specific patterns of motility and glandular secretion that distinguish differing forms of behavior at levels of the esophagus, stomach, intestinal tract and gallbladder. Behavioral states, emphasized in this overview, reflect output from the uppermost levels of complexity. Recognizable behavioral states include: 1) Physiological Ileus; 2) Postprandial State; 3) Interdigestive State; 4) Defense; 5) Emesis; 6) Haustration.

Absence of contractile activity in the muscularis externa of the small and large intestine characterizes the behavioral state of physiological ileus. The postprandial behavioral state is especially obvious in the small bowel. It involves digestive behavior after ingestion of a meal and consists of segmenting (mixing) motility integrated with control of luminal pH and osmolarity at set-point values. The postprandial state reverts to the interdigestive state when digestion and absorption are completed. Motility in the interdigestive state is characterized by the migrating motor complex, which, in addition to specialized propulsive motility, initiates contraction of the gall bladder and secretion of bile into the duodenum (Wood 2012).

The bowel, when in the defensive behavioral state, is characterized by neurogenic hypersecretion and ortho- or retrograde power propulsion working in concert to expel quickly any agents in the lumen that threatens bodily integrity. Power propulsion in the upper small intestine is retrograde and reflects output of the emetic behavioral program in the ENS library. Power propulsion in the large intestine is mostly orthograde and associated with defecation.

The ENS library of programs in the large intestine has four neurogenically programmed patterns of behaviors recognized as: 1) haustral formation, 2) physiological ileus, 3) defecatory power propulsion; 4) defense.

Cellular physiology of neurons, glia and synaptic transfer of chemically coded information from neuron to neuron in integrated microcircuitry is in the lower and middle levels of the ENS neurophysiological hierarchy. Stored at the highest levels of organization of the hierarchy are programs for behaviors that emerge from the organization of the different kinds of neurons, their synaptic connections and their connectivity into circuits at lower levels.

A library containing a neural program for each of the digestive behavioral states mentioned earlier is stored at upper-most levels of complexity of ENS hierarchical organization. The function of each program in the library reminds one of the 21st century digitally programmed “apps” in the Apple® Inc. app store for smart phones, tablet computers and comparable devices. Accordingly, the ENS programs for the variety of independent behavioral states, found in the small and large intestine, are called “apps” in this overview. The author takes this liberty in recognition of an intellectually sharp medical student, who suggested the analogy to him during a lecture. The student’s “apps”, of course, is a frivolous expression that will be used here to emphasize the analogy with computational neural programs in the highest levels of the hierarchy of neurophysiological organization in the ENS.

C. L. Prosser, Professor of Physiology at the University of Illinois, Champaign- Urbana campus, in the United States, taught students, in his comparative neurophysiology lectures, that acquisition of complete description of functions at lower levels of hierarchical organization in a nervous system does not predict behavior that emerges from a nervous system when it is responding and adapting to changes in its environment (Wood 2016). Nevertheless, knowledge of electrophysiological properties of single neurons and the synaptic connections of individual neurons inside configurations of neural circuits and networks at lower levels of a neurophysiological hierarchy is essential for understanding the physiology of independent integrative nervous systems like the ENS. For thorough understanding of normal and abnormal gastrointestinal physiology, awareness of how the components of the ENS work at each of the levels of hierarchical organization is essential.

Postprandial app

The postprandial app, in the small bowel of mammals, is triggered by the intake of a meal. This app programs the mixing (segmentation) pattern of motor behavior. Repetitive propulsive contractions of the circular muscle coat of the muscularis externa, which propagate over very short distances, account for the segmentation appearance when the app is “running”. Circular muscle contractions in short propulsive segments are separated on either side by expanded receiving chambers with relaxed circular muscle and contracting longitudinal muscle, each of which reflect activity in short blocks of a hardwired polysynaptic propulsive circuit in a lower level of neurophysiological hierarchy (Wood 2012a; Wood 2018). The mixing motility

continues at closely spaced sites along much of the length of the small intestine for such time as nutrients are present and sensed in the lumen.

Interdigestive app

The interdigestive app programs the migrating motor complex (MMC), which is the small intestinal motility pattern of the interdigestive state when digestion and absorption have been completed and nutrients are not present in the lumen (Wood 2012a; Wood 2018). The MMC starts as large amplitude contractions occurring at 3 per minute in human distal stomach. Activity starts in the antrum and continues to migrate into the duodenum and on through the jejunum to the ileum. When this app is running, the MMC occupies a limited length of intestine called the “activity front”, which has an upper and lower boundary (Wood 2012a; Wood 2018). The activity front slowly advances (migrates) down the intestine at a rate that progressively slows as it approaches the ileum. The circular muscle contractions in the activity front are reflections of the formation of the propulsive segment of a hard-wired propulsive motor circuit. Each propulsive wave traveling downward in the activity front consists of reflexively wired propulsive and receiving segment (Wood 2012a; Wood 2018). Successive propulsive waves start at the oral boundary and propagate to the aboral boundary of the activity front where they stop. Successive propulsive complexes start on average a short distance further in the aboral direction and propagate on average a short distance beyond the boundary where the earlier one stopped. As a result, the entire activity front appears, on motility recordings, to migrate slowly down the intestine, “sweeping” the lumen clean as it travels. In 1969 discovery of the functions of this app by Joseph H. Szurszewski inspired his mentor, Charles F. Code, to name the MMC “the bowel’s housekeeper” because it slowly sweeps biliary secretions, sloughed epithelial cells and other nonessential contents downward and into the colon (Szurszewski 1969; Code, Marlett 1975; Code 1979). The physiological ileus app functions to keep the muscularis externa in “silent” mode along the bowel oral and aboral to the upper and lower boundaries of the migrating activity front. Neither MMCs nor physiological ileus can be found in the small intestine in the absence of a functional ENS.

Power propulsion app

The power propulsion app programs intestinal motility for rapid clearance of luminal contents from long segments of bowel during running of apps

for specific behaviors, such as emetic motility in the small bowel and defense in the large intestine (Wood 2012a; Wood 2018). Power propulsive motility is characterized by strong, long-lasting contractions of the circular muscle coat of the muscularis externa that propagate over long distances in the small and large intestine. The contractions reflect formation of a specialized propulsive segment by of hard-wired polysynaptic circuit and may be called “giant migrating contractions” because they are considerably stronger than the phasic contractions of the circular muscle coat that appear in the activity front of the MMC or in the mixing motility programmed by the postprandial app.

Giant migrating contractions have prolonged durations lasting for 18 to 20 seconds, when recorded in dogs (Otterson, Sarna 1994). They are the circular muscle contractile component in a propulsive segment formed by a hardwired circuit in the power propulsion app and underlie efficient propulsive motility that strips the lumen clean as they travel at about 1 cm per sec over long lengths of intestine in dogs. Motility programmed by the power propulsion app differs from propulsive motility in the activity front of the MMC app and in the short-segment mixing seen when the postprandial app is running. The circular contractions in the propulsive segment are much stronger, occur independently of electrical slow waves and propagation takes place over much longer stretches of intestine.

Running of the power propulsion app rapidly moves the luminal contents of the distal ileum and colon in the anal direction. Noxious mucosal stimulation is a trigger for calling-up this app and closing any other motility app that might be running. Cramping pain, fecal urgency and diarrhea are often associated with this motor behavior. Mucosal exposure to chemical irritants, introduction of luminal parasites, enterotoxins from pathogenic bacteria, allergic reactions and exposure to ionizing radiation are triggers for calling-up the aboral power propulsion app. Physiological features of this nature suggest that this app is a protective adaptation for rapid clearance of threats from the intestinal lumen.

Defensive app

The defensive app safeguards and protects bodily integrity. Defensive Immuno- neural plasticity of this nature at high levels of ENS neurophysiological organization is apparent in infections with intestinal parasites, such as *Trichinella spiralis*. Repetitive propulsive complexes occur that are significantly stronger than in uninfected controls in terms of volumes of luminal liquid moved

by each complex as it occurs in segments of guinea pig jejunum *in vitro* (Alizadeh et al. 1987). The motor effects of first time *T. spiralis* infections subside within ten to twenty days of infection. Reinfection triggers the same motility response. However, due to integration of immune memory and ENS control, the behavioral response persists for extended periods of two or more months (Alizadeh et al. 1989).

Aborally directed power propulsion is a behavioral component of a more highly organized defensive app centered in higher levels of the ENS organizational hierarchy. The defensive app is called-up by paracrine exposure to neuromodulators released during degranulation of enteric mast cells (Wood 2012b; Wang et al. 2013; Wang et al. 2014). Reconfiguration of the synaptic networks by an overlay of mast cell degranulation products integrates output of a secretomotor app with output of the power propulsion app in a timed sequence (Wood 2012b; Wang et al. 2013; Wang et al. 2014).

The secretomotor app runs first and evokes voluminous mucosal secretion of electrolytes and H₂O that “flushes” threats, which might consist of infectious microorganisms, allergins or noxious substances, into the lumen and holds them in suspension. The neurogenic secretomotor response is followed immediately by running of power propulsion in the anal direction. Power propulsion rapidly propels the large volume of liquid toward the anus. Arrival in the recto-sigmoid region causes rapid distension, which triggers the recto-anal reflex and relaxation of the smooth muscle of the internal anal sphincter. Opening of the internal anal sphincter, in this situation in humans, underlies sensations of fecal urgency and emotional anxiety because the only remaining protection against incontinence is spinally evoked contraction of the skeletal muscle of the puborectalis and external anal sphincter (Wald 2018). Cramping abdominal pain reflects the excessive force of the propulsive contractions evoked during power propulsion. Symptoms of acute explosive watery diarrhea occur at this point in running of the app.

Neurophysiology of the defense app in mammals is reminiscent of polymorphic neural network described in the stomatogastric ganglion of lobsters where a defined neural network is reconfigured in different ways to form different functional outputs to the same effector system or systems, as evidently occurs in intestinal tract of vertebrates (Bucher et al. 2006). Reconfiguration of the output from the lobster network is accomplished through the selective release of dopamine and serotonin as neuromodulatory substances that overlay the entire network in paracrine manner and act to alter the electrical and synaptic behavior of the neural

elements in the microcircuits of the network. Paracrine overlay of mast cell degranulation signals starts the defense app in the same manner in the ENS (Bucher et al. 2006).

Emetic app

The emetic app programs the specialized motor behavior in the small intestine during emesis. During emesis, the direction of power propulsion in the upper one-third of the small intestine is reversed for rapid transport of the luminal contents toward the stomach (Lang 2016). Controlled opening of the gastric pylorus by the ENS permits entry into the stomach and filling of the gastric reservoir. Retching, which is under control of the central nervous system as well as the ENS, empties the reservoir. The ENS then opens the lower esophageal sphincter and retching empties the stomach of vomit.

Emetic behavior is called-up from the library of apps either by commands from the brain or by local sensory detection of threatening substances in the lumen (Lang 2016). Like the power propulsion app in the distal small and large intestine, the adaptive significance of the emesis app is rapid removal of undesirable contents from the lumen of the upper bowel.

Physiological ileus app

Physiological ileus is adapted here as a term to describe absence of motility and propulsion in the small and large intestine which is not pathological. It is a basic behavioral state of the intestinal tract where an ENS app programs quiescence of motor function. Physiological ileus disappears after destruction or blockade of the ENS. Disorganized and non-propulsive contractile behavior occurs continuously due the autogenic contractile properties of unitary type intestinal smooth muscle when ENS functions are anesthetized or destroyed by pathological processes (Wood 1972; Brann, Wood 1976).

Quiescence of the intestinal muscularis externa reflects the operation of an app in which synaptic connections in ENS propulsive motility circuits are closed. ENS inhibitory musculomotor neurons evoke this behavioral state by firing continuously and suppressing responsiveness of the muscularis externa to electrical slow waves entering from interstitial cells of Cajal. Physiological ileus is a normal behavioral state in effect for varying periods of time in different intestinal regions depending on circumstances, such as the time after a meal. When the interdigestive motor app (MMC) is running, the small intestine persists in a state of physiological

ileus in the regions of intestine on either side of the migrating activity front (Wood 2012a).

Medical literature describes “ileus” as being mechanical, “dynamic” or “adynamic” obstruction of the bowel. Adynamic ileus (paralytic ileus) is pathological obstruction of the bowel due to a paralytic-like state of the muscularis externa. Dynamic ileus, on the other hand, is pathological intestinal obstruction due to spastic contraction (i. e., failure to relax) of the circular muscularis externa in a segment of bowel. In view of the defined characteristics of pathological ileus, “physiological

ileus” was invented as a useful term for referencing the non-pathological absence of motility in the small and large intestine. It is a normal state of the bowel in which the ENS programs quiescence of motor function through its control of inhibitory innervation of the smooth musculature.

The physiological ileus app runs for varying periods of time in different intestinal regions depending on extrinsic factors, such as the time after a meal and inhibitory noradrenergic input from sympathetic postganglionic neurons during physical exercise.

References

- Alizadeh, H., Castro, G. A., Weems, W. A. (1987) Intrinsic jejunal propulsion in the guinea pig during parasitism with *Trichinella spiralis*. *Gastroenterology*, vol. 93, no. 4, pp. 784–790. DOI: 10.1016/0016-5085(87)90441-0 (In English)
- Alizadeh, H., Weems, W. A., Castro, G. A. (1989) Long-term influence of enteric infection on jejunal propulsion in guinea pigs. *Gastroenterology*, vol. 97, no. 6, pp. 1461–1468. DOI: 10.1016/0016-5085(89)90390-9 (In English)
- Brann, L., Wood, J. D. (1976) Motility of the large intestine of piebald lethal mice. *American Journal of Digestive Disease*, vol. 21, no. 8, pp. 633–640. (In English)
- Bucher, D., Taylor, A. L., Marder, E. (2006) Central pattern generating neurons simultaneously express fast and slow rhythmic activities in the stomatogastric ganglion. *Journal of Neurophysiology*, vol. 95, no. 6, pp. 3617–3632. DOI: 10.1152/jn.00004.2006 (In English)
- Code, C. F. (1979) The interdigestive housekeeper of the gastrointestinal tract. *Perspectives in Biology and Medicine*, vol. 22, no. 2, pt. 2, pp. S49–55. DOI: 10.1353/pbm.1979.0050 (In English)
- Code, C. F., Marlett, J. A. (1975) The interdigestive myo-electric complex of the stomach and small bowel of dogs. *The Journal of Physiology*, vol. 246, no. 2, pp. 289–309. DOI: 10.1113/jphysiol.1975.sp010891 (In English)
- Gnetov, A. V., Kachalov, Yu. P. (1975a) Orientatsiya mikroelektroda otnositel'no opticheskoy osi pri issledovanii kletok intramural'nogo nervnogo apparata [Orientation of a microelectrode relative to the optical axis when studying cells of the intramural nervous apparatus]. *Fiziologicheskii Zhurnal SSSR Imeni I. M. Sechenova*, vol. 61, no. 5, pp. 791–794. (In Russian)
- Gnetov, A. V., Kachalov, Yu. P. (1975b) Ispol'zovanie svetovoda dlya vyyavleniya intramuralnykh gangliov i spleteniy v nepovrezhdennom funktsioniruyuschem organe [Use of a light guide for revealing intramural ganglia and plexuses in an intact functioning organ]. *Fiziologicheskii Zhurnal SSSR Imeni I. M. Sechenova*, vol. 61, no. 5, pp. 794–797. (In Russian)
- Lang, I. M. (2016) The role of central and enteric nervous systems in the control of the retrograde giant contraction. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, vol. 22, no. 2, pp. 321–332. DOI: 10.5056/jnm15141 (In English)
- Nozdrachev, A. D. (1977) Funktsional'naya organizatsiya gangliov mienteral'nogo spleteniya [Functional organization of the myenteric plexus ganglia]. *Fiziologicheskii Zhurnal SSSR Imeni I. M. Sechenova*, vol. 63, no. 2, pp. 268–276. (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Kachalov, Yu. P., Gnetov, A. V. (1975) Spontannaya aktivnost' nejronov mienteral'nogo spleteniya v nepovrezhdennoj tonkoj kishke krolika [Spontaneous activity of myenteric plexus neurons in the intact rabbit small intestine]. *Fiziologicheskii Zhurnal SSSR Imeni I. M. Sechenova*, vol. 61, no. 5, pp. 725–730. (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Kachalov, Yu. P., Gnetov, A. V. (1977) Adrenosensitive neurons of the myenteric (Auerbach's plexus). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 83, no. 3, pp. 287–289. DOI: 10.1007/BF00799338 (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Vataev, S. I. (1981) Neuronal electrical activity in the submucosal plexus of the cat small intestine. *Journal of Autonomic Nervous System*, vol. 3, no. 1, pp. 45–53. DOI: 10.1016/0165-1838(81)90029-1 (In English)
- Otterson, M. F., Sarna, S. K. (1994) Neural control of small intestinal giant migrating contractions. *American Journal of Physiology*, vol. 266, no. 4, pp. G576–584. DOI: 10.1152/ajpgi.1994.266.4.G576 (In English)
- Sumbre, G., Gutfreund, Y., Fiorito, G. et al. (2001) Control of octopus arm extension by a peripheral motor program. *Science*, vol. 293 (5536), pp. 1845–1848. DOI: 10.1126/science.1060976 (In English)
- Szurszewski, J. H. (1969) A migrating electric complex of canine small intestine. *American Journal of Physiology*, vol. 217, no. 6, pp. 1757–1763. PMID: 5353053. DOI: 10.1152/ajplegacy.1969.217.6.1757 (In English)
- Wald, A. (2018) Neuromuscular physiology of the pelvic floor. In: H. M. Said, R. K. Ghishan, J. D. Kaunitz et al. (eds.). *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 6th ed. San Diego: Academic Press, pp. 565–584. (In English)

- Wang, G. D., Wang, X. Y., Liu, S. et al. (2014) Innervation of enteric mast cells by primary spinal afferents in guinea pig and human small intestine. *American Journal of Physiology — Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 307, no. 7, pp. G719–731. PMID: 25147231. DOI: 10.1152/ajpgi.00125.2014 (In English)
- Wang, G. D., Wang, X. Y., Zou, F. et al. (2013) Mast cell expression of the serotonin_{1A} receptor in guinea pig and human intestine. *American Journal of Physiology — Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 304, no. 10, pp. G855–863. DOI: 10.1152/ajpgi.00421.2012 (In English)
- Wood, J. D. (1970) Electrical activity from single neurons in Auerbach's plexus. *American Journal of Physiology*, vol. 219, no. 1, pp. 159–169. DOI: 10.1152/ajplegacy.1970.219.1.159 (In English)
- Wood, J. D. (1972) Excitation of intestinal muscle by atropine, tetrodotoxin and xylocaine. *American Journal of Physiology*, vol. 222, no. 1, pp. 118–125. DOI: 10.1152/ajplegacy.1972.222.1.118 (In English)
- Wood, J. D. (1973) Electrical discharge of single enteric neurons of guinea-pig small intestine. *American Journal of Physiology*, vol. 225, no. 5, pp. 1107–1113. DOI: 10.1152/ajplegacy.1973.225.5.1107 (In English)
- Wood, J. D. (1981) Intrinsic neural control of intestinal motility. *The Annual Review of Physiology*, vol. 43, pp. 33–51. DOI: 10.1146/annurev.ph.43.030181.000341 (In English)
- Wood, J. D. (1989) Electrical and synaptic behavior of enteric neurons. In: S. G. Schultz, J. D. Wood (eds.). *Handbook of Physiology. Section 6: The Gastrointestinal System. Vol. 1: Motility and Circulation*. Oxford: Oxford University Press, pp. 465–517. (Comprehensive Physiology. Supplement 16). DOI: 10.1002/cphy.cp060114 (In English)
- Wood, J. D. (2012a) Integrative functions of the enteric nervous system. In: L. R. Johnson, J. D. Kaunitz, F. K. Ghishan et al. (eds.). *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 5th ed. San Diego: Elsevier, pp. 671–689. (In English)
- Wood, J. D. (2012b) Nonruminant Nutrition Symposium: Neurogastroenterology and food allergies. *Journal of Animal Science*, vol. 90, no. 4, pp. 1213–1223. PMID: 22100595. DOI: 10.2527/jas.2011-4787 (In English)
- Wood, J. D. (2018) Enteric nervous system: Brain-in-the-gut. In: H. M. Said, R. K. Ghishan, J.D. Kaunitz et al. (eds.). *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 6th edition. San Diego: Academic Press, pp. 361–372. (In English)
- Wood, J. D. (2016) GRG Profiles: Jackie D. Wood. *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 61, no. 7, pp. 1793–1802. DOI: 10.1007/s10620-016-4182-6 (In English)

«Фабрика желудочного сока» в лабораториях И. П. Павлова

А. И. Громова^{✉1, 2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН,
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6
² Мемориальный музей-квартира академика И. П. Павлова,
199034, Россия, Санкт-Петербург, 7-я линия В. О., д. 2

Сведения об авторе

Громова Людмила Ивановна,
AuthorID (РИНЦ): 102042,
e-mail: museum@infran.ru

Для цитирования: Громова, А. И. (2020) «Фабрика желудочного сока» в лабораториях И. П. Павлова. *Интегративная физиология*, т. 1, № 1, с. 11–20.

Получена 7 июля 2019; прошла рецензирование 11 сентября 2019; принята 12 сентября 2019. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-11-20

Права: © Автор (2020). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Проведенные в конце XIX столетия в лабораториях И. П. Павлова операции по внедрению фистул в различные протоки пищеварительных желез подопытных животных, выделение им изолированного желудка собак и, наконец, проведенная им совместно с Е. О. Шумовой-Симановской операция эзофаготомии и связанный с ней так называемый опыт «мнимого кормления» позволили получить чистый, не смешанный с пищей, желудочный сок собак. Его химический состав и физиологические свойства были подробно изучены, и дальнейшие исследования показали возможность применения этого препарата в фармакологии для лечения людей с различными желудочными заболеваниями. Впервые сок как фармакологический препарат был испробован в руководимой С. П. Боткиным терапевтической клинике Военно-медицинской академии. Испытания показали хорошие результаты и неоспоримое преимущество натурального желудочного сока перед имевшимися в продаже пепсинами. В лабораторию И. П. Павлова стали поступать заказы на его получение. С 1898 г. началась заготовка и продажа нового препарата, которая была поручена сотруднику И. П. Павлова — Е. А. Ганике. Отпускался препарат в аптеки и клиники Санкт-Петербурга, затем других городов России, а вскоре продажа его стала осуществляться в различные города Европы и, наконец, Америки. Количество ежегодно получаемого и продаваемого сока неуклонно росло, а к 1915 г. достигло 15 323 флаконов. Средства от продажи сока поступали на нужды лаборатории. После революции 1917 г. заготовка и продажа сока вынужденно прекратились, поскольку все эзофаготомированные собаки погибли из-за недостатка специального питания. Приведенные в статье тексты и фотографии писем, направленных в лабораторию Павлова, публикуются впервые.

Ключевые слова: И. П. Павлов, история физиологии, история фармакологии, натуральный желудочный сок, желудочные заболевания.

Ivan Pavlov's laboratories: The factory of gastric juice

L. I. Gromova^{✉1, 2}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia
² Memorial Apartment Museum of Academician I. P. Pavlov, 2 Seventh Line, Vasilyevsky Island, Saint Petersburg 199034, Russia

Abstract. In the late 19th century Ivan Pavlov and his lab team carried out several landmark surgeries on experimental animals, e.g. a surgery to introduce fistulas to the ducts of digestive glands, to isolate the gastric pouch in dogs as well as an esophagotomy carried out by Pavlov together with Ekaterina Shumova-Simanovskaya. The latter made possible the so-called “sham feeding” experiment which allowed the team to collect pure gastric juice unmixed with food. The team thoroughly studied its chemical composition

Author

Liudmila I. Gromova, RSCI
AuthorID: 102042, e-mail:
museum@infran.ru

For citation: Gromova, L. I. (2020) Ivan Pavlov's laboratories: The factory of gastric juice. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 11–20. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-11-20

Received 7 July 2019; reviewed 11 September 2019; accepted 12 September 2019.

Copyright: © The Author (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

and physiological properties, while further research showed a possibility to use the gastric juice from dogs in pharmacology to treat people with various gastric diseases. The gastric juice was first tried as a pharmacological medication at the therapeutic clinic of Military Medical Academy run by Sergey P. Botkin. The tests showed good results and an indisputable advantage of the natural gastric juice over pepsins available on sale. Soon, Ivan Pavlov's laboratory started receiving orders. The preparation and sale of the new medication supervised by Evgeny Ganike, one of Pavlov's employees, started in 1898. The medication was distributed to drugstores and clinics of Saint Petersburg, then other cities of Russia, and, before long, it was imported to Europe and, at last, America. The annual amount of juice production and sales grew steadily to reach 15,323 bottles by 1915. The proceeds from juice sales contributed to the laboratory development. After the 1917 revolution the production and sales of juice phased out as all the experimental dogs died due to the lack of special food. The paper features some texts and photos of the letters sent to Ivan Pavlov's laboratory that have never been published before.

Keywords: Ivan P. Pavlov, physiology history, pharmacology history, natural gastric juice, gastric diseases.

Предыстория вопроса

В 1904 г. Иван Петрович Павлов стал первым в России нобелевским лауреатом, получив эту престижную награду за работы по физиологии пищеварения. Международное признание стало его уже в возрасте 55 лет, когда за плечами был многолетний опыт лабораторных исследований и экспериментов в этой области физиологии, разработаны методы внедрения фистул в протоки различных желез пищеварительной системы, усовершенствована разработанная Гейденгайном операция изолированного желудка.

В 1889 г. И. П. Павловым совместно с Е. О. Шумовой-Симановской была успешно проведена операция эзофаготомии с наложением желудочной, а затем и панкреатической фистулы и связанный с ней опыт так называемого «мнимого кормления», доказывающий несомненное значение психических явлений в осуществлении пищеварительных процессов. Суть эксперимента заключалась в кормлении собак с перерезанным пищеводом, концы которого были выведены наружу, кусками мяса, которые выпадали из пищевода обратно в тарелку, и собака могла вновь их поглощать. При этом из фистулы желудка все время «кормления» выделялся чистый, не смешанный с пищей желудочный сок. Это «кормление» могло продолжаться в течение десятков минут, и все это время наблюдалось активное выделение из фистулы желудочного сока. Оперированные животные получали пищу искусственным путем и чувствовали себя вполне хорошо.

Полученный таким образом чистый желудочный сок собак всесторонне был изучен с точки зрения его состава, особенностей его химизма

в зависимости от вида пищи, которую давали подопытным животным. Е. О. Шумовой-Симановской в 1893 г. удалось выделить из желудочного сока один из наиболее чистых препаратов пепсина — так называемый «зернистый пепсин», который в дальнейшем был применен в США для получения кристаллических ферментов.

В лабораториях Павлова изучением состава желудочного сока собак занимались многие его ученики и сотрудники, и каждый из них внес свою лепту в решение этой физиологической задачи.

Так, П. Н. Коновалову удалось установить, что оптимальная для пищеварения кислотность желудочного сока равняется 0,2 % HCl и что сок с такой характеристикой обладает значительной антисептической способностью и может длительно сохраняться при комнатной температуре. Сравнивая свойства препаратов пепсина со свойствами желудочного сока, собранного при мнимом кормлении собак, он пришел к выводу, что последний гораздо эффективнее справляется с перевариванием пищи. Его доклад «Различные сорта продажного пепсина в сравнении с натуральным желудочным соком» был заслушан 13 мая 1893 г. на заседании Общества русских врачей. В том же году Коновалов защитил диссертацию «Продажные пепсины в сравнении с нормальным желудочным соком», одним из цензоров которой был Павлов.

А. Ф. Самойлов, с 1892 г. работавший практикантом в Физиологическом отделе Императорского Института экспериментальной медицины (ИИЭМ), изучал влияние длительных режимов питания на желудочную секрецию, определяя расщепляющую силу желудочного сока по способу С. Г. Метта. Количество белкового фермента

в пищеварительных соках определялось с помощью переваренных столбиков белка (в мм), находящихся в стеклянных трубочках, опущенных в тот или иной пищеварительный сок. 21 октября 1893 г. Самойлов на заседании Общества русских врачей подвел итог своих исследований, выступив с докладом «К методу количественного определения пепсина и трипсина».

Особое значение имели работы П. П. Хижина, совместно с которым Павлов произвел знаменитую операцию изолирования маленького желудка с сохранением его иннервации. Работа маленького изолированного желудочка полностью отражала работу большого желудка, являясь, по словам Павлова, его «зеркалом». Чистый сок, собранный с помощью вставленной в маленький желудок фистулы, также можно было изучать химически. Эксперименты, проведенные на оперированных таким образом собаках, позволили выявить закономерности секреторной реакции желудка на разные виды пищи и показать специфический состав желудочного сока при разном содержании корма собак (молоко, хлеб, мясо). Под руководством Павлова Хижин в 1894 г. защитил диссертацию «Отделительная работа желудка у собаки», которая и в наши дни не теряет своей актуальности.

Использование желудочного сока собак в фармакологии и медицине

Впервые применить желудочный сок собак для лечения пациентов с нарушениями работы желудочно-кишечного тракта решился С. П. Боткин. Он руководил терапевтическим отделением клиники Военно-медицинской академии. Результаты клинических испытаний показали несомненное преимущество лечения натуральным желудочным соком по сравнению с имевшимися в продаже пепсинами.

В 1893 г. натуральный желудочный сок собак как фармакологический препарат был впервые представлен Отделом физиологии ИИЭМ в качестве экспоната Гигиенической выставки в Петербурге в разделе физиологии и фармакологии и вызвал большой интерес у фармакологов и медиков.

Участие Боткина в этом смелом проекте, конечно, не случайно. Он активно проповедовал принцип единства клиники и науки, впервые в составе руководимой им клиники открыл ряд научных лабораторий — общеклиническую, бактериологическую, химическую и экспериментально-физиологическую.

Сергей Петрович оказал огромное влияние на научную судьбу Павлова. Когда по его инициативе в октябре 1877 г. при Общине сестер милосердия св. Георгия была организована Школа фельдшерниц для подготовки квалифицированного среднего медицинского персонала, он пригласил Павлова читать там курс физиологии. С 1878 г. Павлов возглавил экспериментально-физиологическую лабораторию при клинике Боткина, в которой проработал 10 лет. В 1884 г. по представлению Боткина он получил двухгодичную научную командировку за границу для стажировки в лабораториях знаменитых немецких физиологов К. Людвига и Р. Гейденгайна.

Павлов всю жизнь был благодарен своему наставнику и продолжал внедрять в науку принципы своего учителя. На заседании Общества русских врачей, посвященном памяти Боткина (1894), он также высказывался о необходимости единения медицины и физиологии: «...Мне представляется желательным, — говорил он, — чтобы физиологи были более знакомы с клиникой и специально с клинической казуистикой. Сколько можно указать случаев, где клинические наблюдения вели к открытию новых физиологических фактов. С другой стороны, в интересах той же науки о человеческом организме было бы очень выгодно, если бы медики были вполне проникнуты физиологическим знанием... Огромная помощь врачу со стороны физиологии возможна только при одном строгом условии, при постоянной проверке физиологических данных клиническими наблюдениями; С. П. Боткин был лучшим олицетворением законного и плодотворного союза медицины и физиологии, тех двух родов человеческой деятельности, которые на наших глазах воздвигают здание науки о человеческом организме и сулят в будущем обеспечить человеку его лучшее счастье — здоровье и жизнь» (Яновский 1894).

Итак, клинические испытания натурального желудочного сока собак показали его неоспоримое преимущество в терапии желудочно-кишечных заболеваний. Весть о новом чудодейственном препарате разнеслась очень быстро, и в лабораторию Павлова стали поступать заказы на его получение. 10 ноября 1898 г. на Совете Института экспериментальной медицины было решено напечатать в газетах объявление об отпуске желудочного сока по способу Павлова (Гуреева, Чебышева 1969, 74). Началась заготовка и продажа препарата. В декабре 1898 г. был заготовлен и отпущен потребителям всего 31 флакон сока. После объявления в газетах на Физиологический отдел ИИЭМ обрушился шквал запросов на новый препарат как из аптек, так и от частных лиц. Удовлетворить этот спрос пока не было возможности, и уже 7 января 1899 г.

на заседании хозяйственного комитета ИИЭМ было решено отпускать сок лишь в аптеки, аптекарские склады и по требованиям врачей (Гуреева, Чебышева 1969, 76). Через четыре месяца хозяйственный комитет ИИЭМ уже подсчитывал доходы от продажи сока, пусть пока и небольшие. В итоговом отчете за 1899 г. указывалось, что за этот период было отпущено 115 флаконов, в следующем 1900 г. эта цифра достигла 262 флаконов.

15 февраля 1901 г. на заседании Совета ИИЭМ директор института С. М. Лукьянов предложил разработать специальную инструкцию по употреблению препарата, но Павлов заявил, что врачи, применяющие естественный желудочный сок, могут получить необходимые сведения из литературы, и составлять особую инструкцию нет надобности. Однако в ноябре того же года такая инструкция была им все-таки составлена и стала прилагаться к флаконам с желудочным соком (Гуреева, Чебышева 1969, 93).

Спрос на желудочный сок все возрастал. 26 октября 1901 г. Павлов на заседании Совета ИИЭМ уже говорил о том, что «...должностной персонал Физиологического отдела не имеет возможности без ущерба для своих научных занятий уделять на заготовление желудочного сока столько времени и труда, сколько было бы желательно, и что надлежало бы ассигновать хотя бы по 30 руб. в месяц на вознаграждение особого лица, коему будет поручено заготовление сока» (Гуреева, Чебышева 1969, 92).

Совет разрешил Павлову приискать сотрудника для работы по заготовлению желудочного сока, оставив за собой общее наблюдение за процессом.

Таким сотрудником стал Евгений Александрович Ганике — один из учеников Ивана Петровича, работавший у него в лаборатории с 1894 г. Выбор на него пал не случайно. Обладая способностями техника-конструктора и достаточными знаниями в области физики и химии, он часто выполнял всю технико-методическую сторону исследований, оказывал методическую помощь научным работникам, работавшим у Павлова.

Из-за того, что получаемых из казны средств часто не хватало для проведения научных исследований, оборудование лабораторий было весьма скудным, так что многие «приборы» в лаборатории Ивана Петровича были сконструированы и собственноручно изготовлены именно Ганике.

«...Для очистки получаемого сока от случайных примесей он соорудил примитивную “воздуходувку” из двух велосипедных колес, соединенных приводными ремнями с краном

городского водопровода над медной ванной в предоперационной комнате, где мыли животных перед наложением фистул. Колеса, снабженные чашками, под напором струи воды вращались, приводя в движение меха, которыми и продувался желудочный сок, очищаясь практически до кристальной прозрачности. Позже сок дополнительно пропускали через специально приобретенные шамберьяновские фильтры, задерживающие яйца глистов и бактерии» (Ноздрачев и др. 2011, т. 2, 792).

Методика получения натурального желудочного сока собак

Способ получения чистого желудочного сока был предложен и детально разработан еще в 1890 г. Его подробно описал Хижин в своем сообщении на заседании Общества русских врачей в сентябре 1894 г.: «Желудок гастротомированной собаки предварительно промывается большим количеством теплой воды, вливаемой посредством желудочного зонда и выливаемой через желудочную фистулу, следовательно, выполаскивается начисто, как колба; затем собаке дают кусок мяса, который она жадно глотает; но куски эти, не попадая в желудок, тотчас же вываливаются наружу через эзофаготомическое отверстие; в то же время из желудочной фистулы начинает выливаться сперва каплями, а затем и прямо струей совершенно прозрачный сок, который тут же и собирается в сосуд. Таким способом, который авторы называли “способом мнимого кормления”, можно получать у собак от 200 до 300 к. с. (куб. см. — Прим. автора) желудочного сока в 1–1,5 часа (Коновалов) без малейшего вреда для ее здоровья» (Яновский 1894, 18) (рис. 1).



Рис. 1. Получение желудочного сока от эзофаготомированных собак в лаборатории И. П. Павлова

Fig. 1. Receiving gastric juice from dogs after an esofagotomiya in Ivan P. Pavlov's laboratory

Поскольку проведение операций эзофаготомии было достаточно сложным, Павлов и его сотрудники искали возможность более простого метода получения сока.

Одним из таких способов было операционное получение малого желудка, из которого через фистулу также выделялся чистый, не смешанный с пищей желудочный сок. Но количество его было слишком мало для практической заготовки продукта, да и проведение операции также представляло достаточно сложный процесс.

Сотрудник Павлова Д. А. Каменский предложил упростить операцию отделения малого желудка. Его метод заключался в наложении глубокой лигатуры в нижней части желудка собаки со вставлением в выделенный сегмент канюли для получения чистого сока. 23 февраля 1895 г. на заседании Общества русских врачей Каменский познакомил присутствующих со своим новым методом (Яновский 1895, 244). Павлов отметил оригинальность и простоту предложенного метода (главным образом простоту и короткую длительность проведения операции). Но, к сожалению, оперированная таким образом собака могла давать сок только в течение семи-девяти дней, затем наступало постепенное отторжение ущемленного участка желудка. Так что для практического коммерческого получения сока этот способ тоже не годился. Натуральный желудочный сок стали получать исключительно способом мнимого кормления.

Архивные документы

В фондах Мемориального музея-квартиры И. П. Павлова хранится папка с письмами, адресованными в Физиологический отдел Института экспериментальной медицины и лично профессору Ганике с запросами на желудочный сок, а также с информацией о приборах, выпускаемых для лабораторных нужд той или иной фирмой, или уже высланных в ИИЭМ по запросам Ганике. Папка содержит корреспонденцию за 1906–1914 гг., в ней хранится 137 писем и почтовых открыток. Большинство писем написано на немецком языке и требует перевода и дальнейшего анализа. Однако даже русскоязычная корреспонденция дает достаточно полное представление об особенностях заготовки и пересылки желудочного сока, потребность в котором с каждым годом возрастала. Запросы на поставку сока шли от частных лиц, из российских и зарубежных аптек и больниц. Среди них: Товарищество В. К. Феррейна в Москве, аптекарский магазин М. И. Милославского в Севастополе,

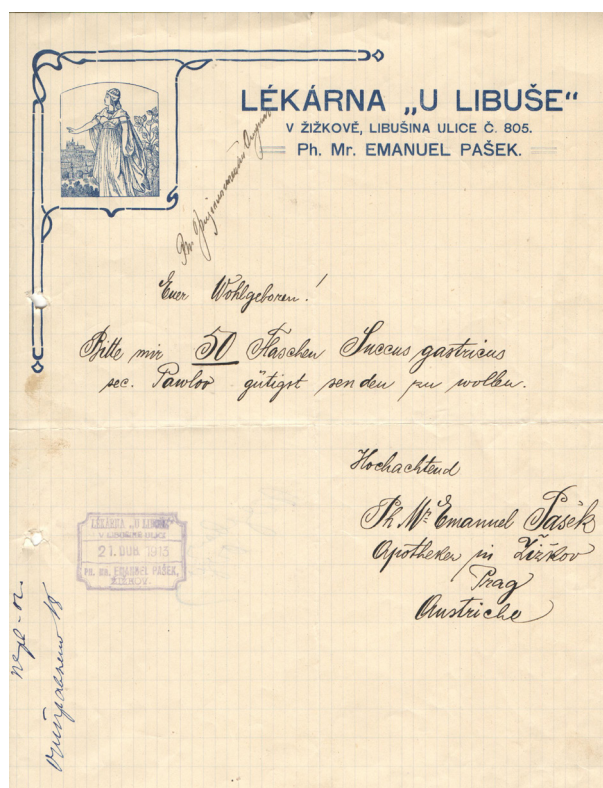


Рис. 2. Заказ на 50 флаконов желудочного сока из аптеки Lekarna «U Libuse» в Жижкове
Fig. 2. The order for 50 bottles of gastric juice from U Libuse drugstore in Zhizhkov

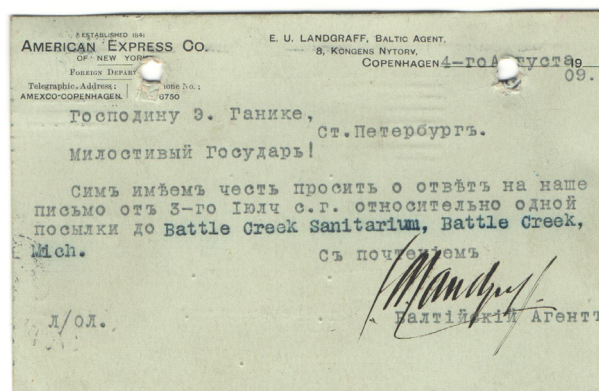


Рис. 3. Письмо Е. У. Ландграфа, балтийского агента фирмы American Express Co., с просьбой ускорить посылку желудочного сока в Battle Creek Sanitarium (США, штат Мичиган)

Fig. 3. The letter of E. U. Landgraff, the Baltic agent of American Express Co., with a request to arrange a faster dispatch of gastric juice into Battle Creek Sanitarium (Michigan, USA)

Lekarna «U Libuse» в Жижкове (рис. 2), «Neptun-Apotheke» в Штеттине, «The Battle Creek Sanitarium» (США) (рис. 3) и др.

Популярность нового лекарства даже придавала ему в представлениях многих несвойственную чудодейственную ценность. Так, в одном из писем можно прочесть:

«М. Г. Моему сыну, больному туберкулезом, советовали в качестве могущественного питательного средства употреблять регулярно желудочный сок. Но, к сожалению, даже от врача я не мог узнать ни способа приема, ни его дозировку и проч. По совету этого врача я и позволяю себе просить Вас не отказать мне в сообщении, хотя бы самом кратком, следующих сведений:

1. Имеет ли значение желудочный сок, как питательное средство, при туберкулезе в начальной форме?

2. Может ли он приниматься во всякое время и при любой диете?

3. Как должно дозировать желудочный сок? (больному 18 лет).

4. Не вызывает ли он побочных явлений и при каких из них употребление сока должно быть приостановлено?

5. Цена желудочного сока с доставкой его мне в Петербург и сколько именно сока может быть выслано в виде пробной порции?

6. Долго ли и как должен быть сохранен сок?

Прошу великодушного Вашего извинения за причиненное беспокойство.

Готовый к услугам

В. Трахтенберг.



Рис. 4. Запрос на желудочный сок от Кавказского товарищества торговли аптекарскими товарами в Тифлисе

Fig. 4. Request for gastric juice from the Caucasian Association of Pharmaceutical Sales in Tiflis

Царское Село, Церковная улица, д. 6, Сергеевского.

Владимиру Осиповичу Трахтенбергу» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 48).

Ганике вел регулярную переписку не только с клиниками и аптеками нашего города и других городов России (рис. 4), но и с европейскими фирмами — «Max Kohl» в Берлине, «Maison Wiesnegg» в Париже и др. о поставке нужного оборудования, согласовывал удобную для транспортировки сока форму флаконов, размеры, стоимость и т. п. (рис. 5).

Производительность «фабрики желудочного сока» неуклонно росла.

В 1903 г. было заготовлено уже 2358 флаконов, в 1904 г. — 3273, в 1906 г. — 5978, в 1907 г. — 8957, в 1908 г. — 9022, в 1910 г. — 8389, в 1911 г. — 10245, в 1912 г. — 11066, в 1913 г. — 13914, в 1914 г. — 15114, в 1915 г. — 15323 (Гуреева, Чебышева 1969, 103, 108, 118, 123, 130, 142, 147, 154, 160, 163).

Средства от продажи сока поступали на нужды лаборатории. Еще в декабре 1902 г. Павлов писал принцу А. П. Ольденбургскому, организатору и попечителю Института экспериментальной медицины: «...Позволяю себе поделиться с Вашим Высочеством радостью, что бюджет

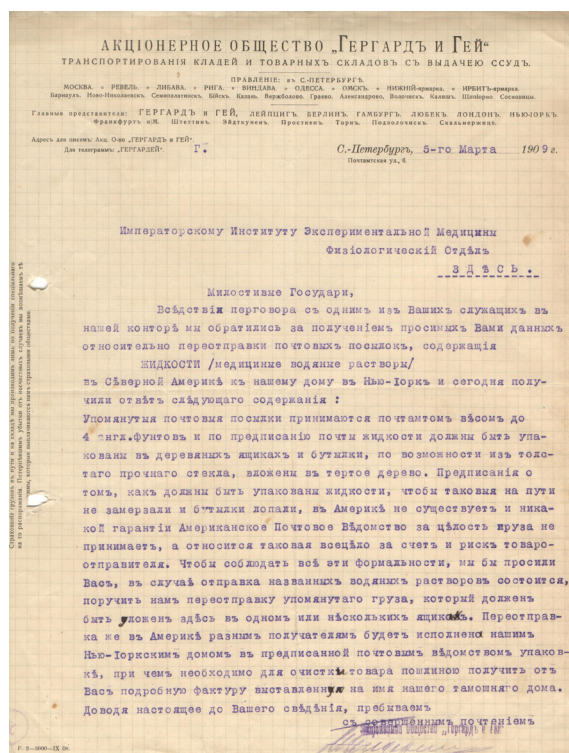


Рис. 5. Письмо от Акционерного общества «Гергард и Гей» с подробной инструкцией об условиях пересылки желудочного сока в Америку

Fig. 5. The letter from Gergard and Gay with the detailed instruction on how to deliver gastric juice to America

физиологической лаборатории Института увеличился почти на 1000 руб. благодаря все развивающемуся отпуску желудочного сока» (Крепс 1970, 12).

Стоимость препарата

Цена отпускаемого для продажи сока варьировалась — сначала она равнялась 50 коп. за флакон, затем стала постепенно увеличиваться, меняясь в зависимости от коммерческого спроса (рис. 6).

Об этом говорят тексты некоторых писем из переписки Ганике:

«19.10.1911 г.

4 бутылки желудочного сока получил, но что-то его мне отослали чересчур уже дорого 3 р. 94 к : 4 = 94 к., почти 1 руб. бутылка, а между тем я его раньше всегда покупал по 55 к. Я полагал, что он сейчас еще дешевле, а вышло с пересылкой вдвое дороже.

Д-р Гуминский, Кагул, Бессарабской губ.» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 90).

В письмах другого заказчика читаем:

«К. Ромпальски. Честохова, 7/20 дек. 1911 г.

М. Г. Честь имею просить Вас выслать мне по железной дороге малой скоростью налож.

платеж. 25–30 фл. желудочн. сока. При последнем заказе я тоже просил Вас выслать 25 фл. по жел. дор. Вы же выслали по почте, что обошлось мне очень дорого и прошу не высылать по почте.

С почтением, К. Ромпальски» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 94).

И далее:

«К. Ромпальски. Честохова, 16/29 дек. 1911 г.

М. Г. В ответ на Ваше почт. откр. письмо честь имею возразить, что присылаемый Вами по почте желудочный сок стоит мне здесь 95 коп., когда аптеки не желают платить мне больше рб. 1.00. Поэтому я покорнейше Вас прошу выслать мне 25 или больше флаконов по почте или же по жел. дор. так, чтобы сок не стоил мне больше 85 коп. здесь. Надеюсь, что Вы примете мое прошение во внимание.

Пребываю с почтением, К. Ромпальски» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 95).

Надо сказать, что Институт экспериментальной медицины всегда старался выполнить просьбы своих клиентов. Это касалось как цены на препарат, так и особых условий его получения. Сложности появлялись иногда при пересылке сока за границу, но и здесь помощь ИИЭМ была своевременной. Об этом мы можем судить по следующим письмам:

«Dresden. 28. III. 908. Bergstrasse 33. Eugen von Szperl.

Милостивый государь! Покорнейше прошу выслать мне шесть (6) бутылок желудочного сока, при коем прошу приложить все возможные указания — дозу приема, диету и т. п. Прошу сообщить тоже, как долго сок сохраняет свою надлежащую силу.

Что касается таможи, то представляет несколько довольно неприятных затруднений:

- 1 — требуют распечатки бутылки,
- 2 — требуют ее содержание,
- 3 — взыскивают пошлину в сумме (2) двух марок за одну склянку!

В подтверждение 3-го пункта прилагаю квитанцию г-жи Виноградской. Нельзя как-нибудь избежать такой большой пошлины, а может быть можно таковую уплатить на месте, т. е. в Петербурге?

По получении письма прошу немедленно выслать требуемую партию желудочного сока.

Прошу принять уверения глубокого к Вам почтения. Евгений Шперль» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 54).

Уже через неделю заказчик из Дрездена присылает благодарственное письмо следующего содержания:

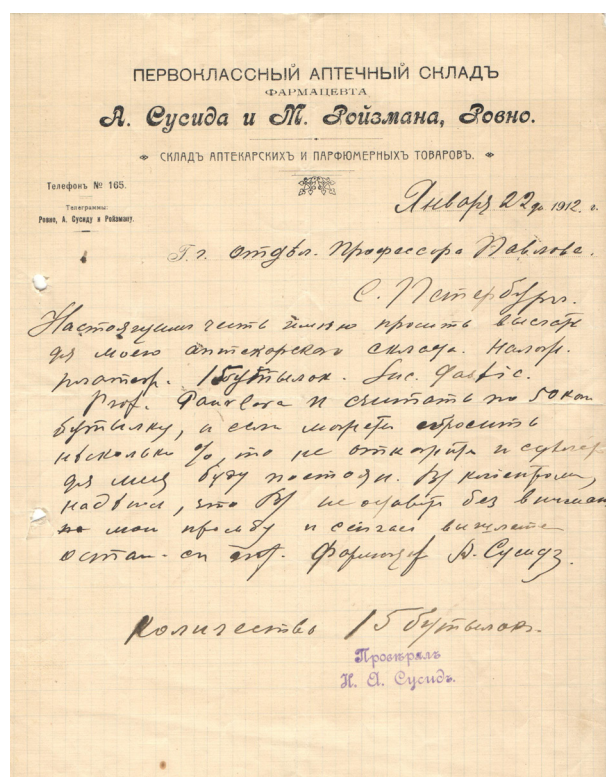


Рис. 6. Письмо из Ровно от владельцев аптечного склада А. Сусида и М. Ройзмана с просьбой о снижении цены на желудочный сок

Fig. 6. Letter A. Susid and M. Roizman, the owners of the Pharmaceutical Warehouse in Rovno with a request to reduce the price of gastric juice

«Dresden. 6. IV. 08. Bergstrasse 33.

Милостивый государь!

Ваше любезное письмо со всеми мне нужными сведениями получил. Благодаря бумаге, подписанной господином директором и господином письмоводителем Вашего Института, желудочный сок в количестве шести (6) бутылок, без малейших трудностей и без всякой пошлыны, был мне доставлен почтой на дом. Благодаря тщательной упаковке все шесть бутылок доехали в целости. Прошу покорнейше прислать счет, по которому тотчас же перешлю надлежащую сумму.

Прошу принять уверения в глубоком уважении. Е. Шперль» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 59).

Претензии к качеству желудочного сока

Правда, не всегда сок доходил до потребителей в хорошем состоянии. Среди писем, адресованных Физиологическому отделу ИИЭМ, встречаются и претензии к качеству продукта (рис. 7).



Рис. 7. Претензия к качеству желудочного сока от химической лаборатории доктора Пеля и сыновей (Санкт-Петербург)

Fig. 7. Complain about the quality of gastric juice from the chemical laboratory of Doctor Pel and Sons (Saint Petersburg)

Таково, например, письмо, написанное на бланке Химической лаборатории профессора доктора Пеля и сыновей:

«С-Петербург, 9 сент. 1908 г.

В Императорский Институт Экспериментальной Медицины. Здесь.

Милостивые Государе,

30 мая с. г. Вами были присланы нам, по нашему заказу 50 флак. желудочного сока, которые мы послали одному из наших заказчиков в г. Харбин. В настоящее время мы получили от этой фирмы уведомление о том, что означенный желудочный сок оказался совершенно негодным к употреблению, так что лица, приобретшие таковой, вернули его обратно.

Ввиду всего изложенного покорнейше просим сообщить, не найдете ли Вы возможным переменить означенный желудочный сок на свежий.

В ожидании Вашего уважаемого ответа пребываем,

С совершенным почтением

За Т-во «Профессор Д-р Пель и Сыновья».

(Подпись неразборчива) (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 66).

Все подобного рода претензии всегда решались в пользу покупателей, некачественный сок заменяли на новый, причем в самое короткое время и независимо от того, кто выразил недовольство — известная фирма или частное лицо. Об этом свидетельствует, например, такое письмо:

«Императорскому Институту экспериментальной медицины.

Уведомляя Вас об исправном получении шести флаконов желуд. сока взамен раньше полученных, приношу свою благодарность за неожиданное для меня возмещение и считаю долгом заявить, что присланный сок оказался очень хорошего качества, приятного вкуса и приносит, насколько заключаю, мне пользу в плохом и раньше расстроенном пищеварении и потому ослабленном питании, зависящих еще от ужасных нервных болей tabes dorsalis. Выражаю еще сочувствие в печальной случайности получения Вами плохих фильтровальных свечей.

С искренним почтением, А. Смирнов

С. Бондари, Тамб. Уезда, 16 октября 1907 г.»

(Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 37).

Все жалобы не только внимательно рассматривались, но их содержание оценивалось с точки зрения возможного улучшения заготовки и пересылки сока.

Например, в ответ на претензию Товарищества В. К. Феррейн в Москве к качеству присланного сока (рис. 8) Ганике отвечал следующее:

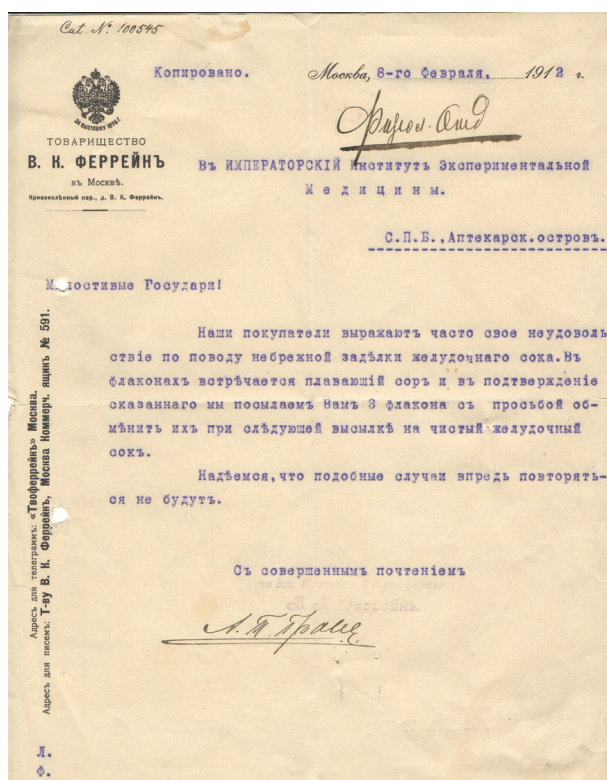


Рис. 8. Претензия к качеству желудочного сока от Товарищества В. К. Феррейн (Москва)

Fig. 8. Complain about the quality of gastric juice from V. K. Ferreyne's Association (Moscow)

«18.2.1912. Милост. Г-ри.

Сегодня нами получены 3 бутылки, о которых Вы говорили в Вашем письме от 8.2.1912. Имею честь заявить, что всегда с готовностью обменом флакон, который почему-либо не соответствовал ожиданиям. Относительно мелких частичек мы должны заметить, что они получаются из пробок, которые приходится для дезинфекции сильно варить. Берутся они лучшего качества (отборные), но вследствие варки для стерилизации теряют свою прочность и не имеют того аккуратного вида, какой может иметь пробка, вставленная обычным образом. Мы будем делать пробы с приложением пергаментных защитных кружочков, а до тех пор мы должны покорнейше просить обращать внимание на то, что при втыкании пробки в бутылку из нее выдавливается находящаяся там жидкость и загрязняется соринками, что никак не стоит в связи с недоброкачественностью сока в гигиеническом отношении.

Вместе с мелким сором мы в двух присланных бутылках нашли крупный сор от недостаточно полоскания бутылок, и совершенно ободраные этикетки. За сообщение таких крупных недочетов укупорки мы Вам очень признательны и примем меры к их устранению. Высланы три

бутылки 18.2.1912» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 101).

Такое внимательное отношение к заказчикам не могло не вызывать уважения к поставщикам лекарства. Некоторые признательные пациенты даже старались по собственной инициативе пропагандировать новый препарат. Об этом свидетельствует, например, письмо Присяжного поверенного К. А. Яковлева, написанное на личном бланке, следующего содержания:

«Константин Александрович Яковлев, Присяжный поверенный.

Москва, 14 октября 1913 г.

В Институт Экспериментальной медицины С-Петербурга.

М. Г. Очень прошу Вас не отказать мне в любезности прислать брошюры, проспекты и т. п., касающиеся способа употребления, значения, силы действия и результатов от употребления желудочного сока, добываемого в Вашей лаборатории по способу пр. Павлова. В Москве на эту тему мне ничего не могли указать ни в одной аптеке, между тем нужда в таком издании вряд ли требует доказательства.

Испытав благотворное действие сока на здоровье своей дочери еще в Ялте, я имею в виду пропагандировать это средство в Финляндии, где о нем не имеют представлений, равно как и в Швеции и Норвегии, где мне пришлось быть нынешним летом.

Поэтому Вы окажете мне большое одолжение, если одновременно с присылкой по указанному на бланке сего адресу упомянутых брошюр отошлете некоторое количество их, если, конечно, они идут бесплатно по адресу: Финляндия, Ганге, Parkgatan Herrn Birger Okermann. Если же эти посылки грозят наложенным платежом, то я прошу выслать просимое только мне.

Исполнением просьбы меня обяжете, готовый к услугам К. Яковлев.

P. S. Есть ли литература по вопросу о желудочном соке по способу пр. Павлова и где ее найти?» (Переписка с Физиологическим отделом ИЭМ, 123).

Послереволюционные сложности

Практически вся работа по получению и рассылке желудочного сока ложилась на плечи Ганике. Павлов неоднократно ходатайствовал перед Советом ИИЭМ о выплате ему вознаграждения за эти обязанности (в 1907, 1913, 1917 гг.). В 1913 г. помощь Ганике в этих работах стал оказывать только что пришедший в лабораторию ИИЭМ на должность лаборанта А. Н. Крестовников, но 1 октября 1914 г. он, к сожалению,

прекратил работу в отделе по разливу желудочного сока (Гуреева, Чебышева 1969, 162).

Тем не менее «фабрика» успешно продолжала свою работу вплоть до 1917 г. Но, конечно, суровые послереволюционные условия не смогли не сказаться на этой деятельности Физиологического отдела. Оперированные эзофаготомированные собаки требовали особого ухода и особого состава пищи для кормления их искусственным путем. 9 марта 1917 г. Павлов выступил на заседании Совета ИИЭМ с заявлением о необходимости увеличения продажной цены на желудочный сок до 1 руб. 50 коп. за флакон в связи с удорожанием содержания собак. 7 июня 1917 г. он направил письмо в центральную продовольственную управу с просьбой предоставить необходимые продукты для кормления подопытных животных Физиологического отдела ИИЭМ. Видимо, оно не имело успеха, так как

13 июня 1917 г. Совет ИИЭМ принял решение увеличить цену на желудочный сок до двух рублей за флакон в связи с удорожанием корма для собак, а 16 сентября 1917 г. цена на желудочный сок вновь была повышена до трех рублей за флакон. На этом настоял сам Павлов. 22 декабря 1917 г. на Совете ИИЭМ было решено выдать вознаграждение Ганике за изготовление желудочного сока, и на этом сведения о его заготовке и продаже Физиологическим отделом ИИЭМ обрываются (Гуреева, Чебышева 1969, 177).

Однако натуральный желудочный сок как лечебный препарат использовался и в более позднее время, используется он в фармакологии и сейчас для лечения гастритов с пониженной кислотностью, ахилии желудка и т. п. И до сих пор многие из продающихся в аптеках препаратов сока получены методом «мнимого кормления» по способу Ивана Петровича Павлова.

Литература

- Гуреева, Н. М., Чебышева, Н. А. (сост.) (1969) *Летопись жизни и деятельности академика И. П. Павлова*. Т. 1. 1849–1917. Л.: Наука, 220 с.
- Крепс, Е. М. (ред.) (1970) *Переписка И. П. Павлова*. Л.: Наука, 449 с.
- Ноздрачев, А. Д., Поляков, Е. Л., Громова, Л. И. и др. (2011) *Павловская энциклопедия. Люди. События. Факты*: в 2 т. СПб.: Гуманистика. Т. 1: А — П, 632 с. Т. 2: Р — Я, Приложения, 576 с.
- Переписка с Физиологическим отделом Института экспериментальной медицины по вопросам, связанным с получением и продажей натурального желудочного сока (1906–1914) *Фонд Мемориального музея-квартиры академика И. П. Павлова*.
- Яновский, М. В. (ред.) (1893–1894) *Труды Общества русских врачей в С-Петербурге с приложением протоколов заседаний общества за 1893–1894 год*. СПб.: Типография М. М. Стасюлевича, 19 с.

References

- Gureeva, N. M., Chebysheva, N. A. (comp.) (1969) *Letopis' zhisni i deyatel'nosti akademika I. P. Pavlova [Chronicle of life and activity of the academician I. P. Pavlov]*. Vol. 1. 1849–1917 Leningrad: Nauka Publ., 220 p. (In Russian)
- Kreps, E. M. (ed.) (1970) *Perepiska I. P. Pavlova [I. P. Pavlov's correspondence]*. Leningrad: Nauka Publ., 449 p. (In Russian)
- Nozdrachev, A. D., Polyakov, E. L., Gromova, L. I. et al. (2011) *Pavlovskaya entsiklopediya. Lyudi. Sobytiya. Fakty [Pavlov's encyclopedia. People. Events. Facts]*: In 2 vols. Saint Petersburg: Gumanistika Publ. Vol. 1: A — P, 632 p. Vol. 2: R — Y, Applications, 576 p.
- Perepiska s Fiziologicheskim otdelom Instituta eksperimentalnoy meditsiny po voprosam, svyazannym s poluceniem i prodazhey naturalnogo zheludochno go soka [Correspondence with Physiological department of Institute of experimental medicine of the questions connected with receiving and sale of natural gastric juice] (1906–1914) *Fond Memorial'nogo muzeya-kvartiry akademika I. P. Pavlova [Academician Ivan P. Pavlov's Memorial Museum-Apartment]*. (In Russian)
- Yanovsky, M. V. (ed.) (1893–1894) *Trudy Obshchestva russkikh vrachej v S-Peterburge s prilozheniem protokolov zasedaniy obshchestva za 1893–1894 god [Proceedings of the Society of Russian doctors in St Petersburg with the Appendix of the minutes of the meetings of the society for 1893–1894]*. Saint Petersburg: Stasyulevich Printing house, 19 p. (In Russian)

Ivan Pavlov and Hans Selye: Two physiologists of towering historic repute

A. Somogyi^{✉1}

¹ Gesellschaft für Natur- und Heilkunde, 144 Lichterfelder Ring, Berlin 12209, Germany

Author

Arpad Somogyi,
Scopus AuthorID: 56150529900,
e-mail: brbebu@t-online.de

For citation: Somogyi, A. (2020) Ivan Pavlov and Hans Selye: Two physiologists of towering historic repute. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 21–22. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-21-22

Received 31 July 2019; reviewed 11 September 2019; accepted 11 September 2019.

Copyright: © The Author (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Apart from his best-known work on stress, Hans Selye, recognized as the father of the stress concept, made a plethora of highly original discoveries. This paper outlines some of his equally significant findings and highlights Selye's high esteem for Pavlov. It was a great honor for me to participate as one of the three course directors in the Seventh Summer School on Stress (SSS-2019) held at the Pavlov Institute of Physiology between 25 and 28 June 2019 in Saint Petersburg.

Keywords: stress, Ivan Pavlov, Hans Selye, history of physiology, pluricausal diseases.

Introduction

Ever since my early years at elementary school in Hungary, when I first heard our biology teacher speak about the work of a famous professor in faraway Russia and the scientific contribution he received the Nobel Prize for, I kept Ivan Petrovich Pavlov's name in my memory.

Only after many years of school and higher education could I really begin to comprehend and appreciate his overwhelming impact on biology and medicine in particular.

In my late 20s, when I received the privilege to join my deeply respected teacher Professor Hans Selye in Montreal, I encountered the name of Pavlov again, although in an entirely different context. Many Selye's admirers from all over the world sent him their portraits, often signed; thus, long corridors of Selye's institute, the Institute of Experimental Medicine and Surgery of the University of Montreal (fig. 1), were lined with innumerable paintings depicting prominent scientists, outstanding representatives of public life and other distinguished people. However, only two portraits decorated the wall above the main entrance of the institute, facing the director's office: one of them was of Pavlov and the other of Einstein (fig. 2).

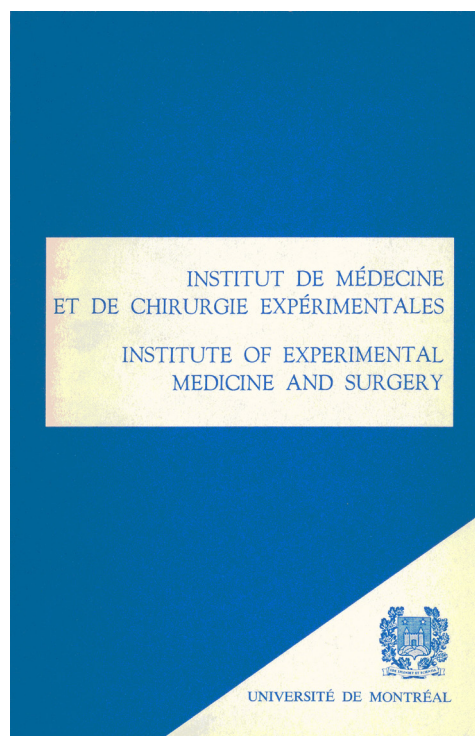


Fig. 1. Signboard of Institute of Experimental Medicine and Surgery of the University of Montreal

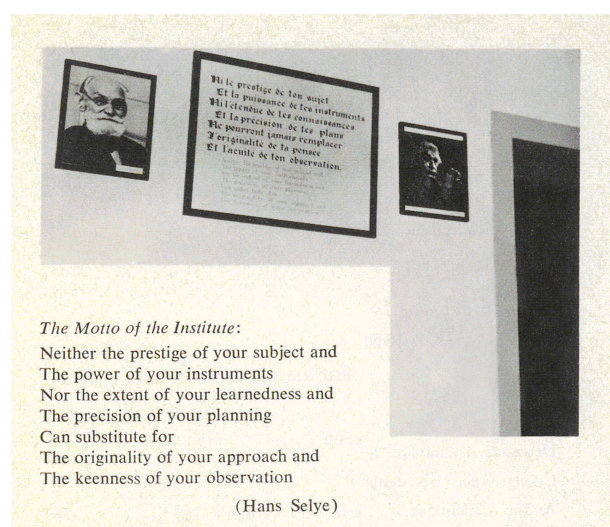


Fig. 2. Portraits of Pavlov and Einstein in the Institute of Experimental Medicine and Surgery of the University of Montreal

Pavlov and Einstein's portraits placed above the main entrance were a visible demonstration that Selye held these two giants of science in extraordinary high esteem.

The institute first greeted me with its pronounced science-driven atmosphere, created and relentlessly promoted by its director, in 1966, taking me in as a postgraduate student aspiring for a PhD degree.

Hans Selye — the father of the stress concept

Apart from his best-known work on stress, Hans Selye, the father of the stress concept, also made a host of highly original discoveries on various other fields of experimental medicine (Gabbiani 1967). He described, characterized and explored pluricausal diseases (e.g., various cardiopathies, calcergy, calciphylaxis, thrombohemorrhagic phenomenon, acute conditioned necrosis), anaphylactoid edema as well as catatonic and syntoxic mechanisms (Selye 1966; Selye et al. 1967; Selye et al.

1968; Somogyi 2014). Selye also made a pivotal contribution to the broad field of endocrinology, especially to the classification of steroids, resulting in our better understanding of their mode of action. Moreover, he developed surgical techniques and experimental animal models suitable for studying pathogenesis and prevention of human diseases (Szabo et al. 2012).

Selye was an extremely well educated, highly intelligent and disciplined individual, an inventive and creative scientist, an outstanding teacher, a philosopher, a prolific author, and a fabulous communicator (Somogyi 2015). Furthermore, he was a gifted manager, able to successfully establish, develop and run a major world-famous academic research institution, as I mentioned earlier, the Institute of Experimental Medicine and Surgery of the University of Montreal. There, I had the great honor to work under his academic leadership for four years. I have enormously benefited from being exposed to his approach to science in general, the way he devised, conducted and evaluated experiments and arrived at conclusions. I never ceased to be amazed by his work ethic, extraordinary efficiency, brilliant organizational skills and a superb talent to communicate his thoughts in both scientific and popular articles as well as in oral presentations.

Conclusion

Working in Selye's institute was a full-time occupation characterized by long hours of hard work (seven days a week) in a stimulating and competitive environment, filled with moments of joy and success and occasionally overcast with clouds of failure and frustration. Ultimately, it was a great privilege that resulted in a lifelong memory of an unbelievably rewarding experience.

Regrettably, the Institute of Experimental Medicine and Surgery, founded and made world famous by Hans Selye, could not survive its creator.

References

- Gabbiani, G. (ed., comp.) (1967) *Reflections on biological research*. St. Louis: Warren H. Green, Inc., 244 p. (In English)
- Selye, H. (1966) Pluricausal diseases. *Experimental medicine and surgery*, vol. 24, no. 2, pp. 191–209. (In English)
- Selye, H., Somogyi, A., Végh, P. (1967) Gyulladás és stress a pluricausalis betegségek koncepciójának megvilágításában [Inflammation and stress in the light of the concept of pluricausal diseases]. *Orvosi Hetilap*, vol. 108, no. 52, pp. 2449–2456. (In Hungarian)
- Selye, H., Somogyi, A., Vegh, P. (1968) Inflammation, topical stress and the concept of pluricausal diseases. *Biochemical Pharmacology*, vol. 17, suppl. 1, pp. 107–122. PMID: 5652412. DOI: 10.1016/0006-2952(68)90298-0 (In English)
- Szabo, S., Tache, Y., Somogyi, A. (2012) The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: A retrospective 75 years after his landmark brief "Letter" to the Editor of Nature. *Stress*, vol. 15, no. 5, pp. 472–478. DOI: 10.3109/10253890.2012.710919 (In English)
- Somogyi, A. (2014) Selye's Concept of pluricausal diseases and its impact on regulatory science. *Ideggyógyászati szemle*, vol. 67, no. 3–4, pp. 87–90. PMID: 26118246. (In English)
- Somogyi, A. (2015) Selye János, a kreativitás és eredetiség nagymestere [Hans Selye, the grandmaster of creativity and originality]. *Orvosi Hetilap*, vol. 156, no. 35, pp. 1396–1401. DOI: 10.1556/650.2015.30245 (In Hungarian)

УДК 612.018+612.884

DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-23-31

Стресс-вызванная анальгезия: роль гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы

Н. И. Ярушкина^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторе

Ярушкина Наталья Ильинична,
SPIN-код: 8246-9615, Scopus
AuthorID: 6602353204, e-mail:
yarni60@mail.ru

Для цитирования:

Ярушкина, Н. И. (2020) Стресс-вызванная анальгезия: роль гормонов гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы. *Интегративная физиология*, т. 1, № 1, с. 23–31. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-23-31

Получена 10 июля 2019; прошла рецензирование 30 июля 2019; принята 31 июля 2019.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФИ 19-015-00514.

Права: © Автор (2020). Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Одним из адаптивных проявлений стрессорной реакции является кратковременное уменьшение болевой чувствительности у человека и животных, получившее название «стресс-вызванной анальгезии» (СВА). Ключевой системой, активирующейся при стрессе и обеспечивающей адаптацию организма, является гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система (ГТАКС). Один из механизмов СВА может быть связан с гормонами данной системы, при этом особая роль в регуляции болевой чувствительности принадлежит гормону центрального звена ГТАКС кортикотропин-рилизинг фактору (КРФ) и глюкокортикоидным гормонам, анальгетические свойства которых хорошо известны и используются в клинике. Цель настоящего обзора — на основании результатов собственных исследований и данных литературы проанализировать вклад в развитие СВА механизмов, связанных с КРФ и глюкокортикоидными гормонами, действие которых опосредуется КРФ рецепторами 1 и 2 типа, глюкокортикоидными рецепторами и опиоидными рецепторами.

Ключевые слова: стресс-вызванная анальгезия, гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система, глюкокортикоидные рецепторы, рецепторы кортикотропин-рилизинг фактора 1 и 2 типа, опиоидные рецепторы.

Stress-induced analgesia: The role of the HPA axis hormones

N. I. Yarushkina^{✉1}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Author

Natalia I. Yarushkina, SPIN: 8246-9615, Scopus AuthorID: 6602353204, e-mail: yarni60@mail.ru

For citation: Yarushkina, N. I. (2020) Stress-induced analgesia: The role of the HPA axis hormones. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 23–31. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-23-31

Received 10 July 2019; reviewed 30 July 2019; accepted 31 July 2019.

Funding: The research is supported by Russian Foundation for Basic Research, grant no.19-015-00514.

Copyright: © The Author (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. One of adaptive consequences of the stress response is a short-term decrease in pain sensitivity in humans and animals known as “stress-induced analgesia” (SIA). The HPA axis is a key system that activates during stress and provides organism adaptation. One of the mechanisms of SIA may be associated with the HPA hormones, in particular with corticotropin-releasing factor (CRF), the major hormone of the HPA axis, and glucocorticoids, whose analgesic properties are well known and used in medical practice. Based on the results of our research and literature review, the aim of the paper was to analyze SIA mechanisms related to CRF and glucocorticoid hormones mediated by CRF receptors 1 and 2 as well as glucocorticoid and opioid receptors.

Keywords: stress-induced analgesia, HPA axis, glucocorticoids, corticotropin-releasing factor, corticotropin-releasing factor receptors type 1 and 2, glucocorticoid receptors.

Введение

Стресс оказывает двунаправленное действие на болевую чувствительность. Он может уменьшать болевую чувствительность (гипоалгезия) или, наоборот, усиливать ее (гипералгезия) в зависимости от природы стрессора, его интенсивности и продолжительности. Острый стресс, в отличие от хронического стресса, «запускает» защитные реакции, направленные на поддержание гомеостаза и повышение адаптационных возможностей организма. Одним из адаптивных проявлений действия стрессоров является кратковременное уменьшение болевой чувствительности у человека и животных, получившее название «стресс-вызванной анальгезии» (СВА). Одна из первых публикаций, посвященных этому феномену, появилась в 1946 г. (Beecher 1946). Автор обнаружил, что солдаты, раненые во время боевых действий, меньше нуждались в обезболивающих препаратах по сравнению с гражданскими лицами, получившими похожие травмы в мирное время. Эти данные привели к предположению об активации в условиях экстремальной ситуации, связанной с угрозой для жизни, механизмов, обеспечивающих кратковременное подавление болевой чувствительности.

Понимание естественных для организма механизмов угнетения болевой чувствительности при стрессе представляет интерес с точки зрения поиска новых терапевтических «мишеней» и подходов для обезболивания, поэтому неудивительно, что на протяжении более 30 лет изучение механизмов СВА находится в центре внимания исследователей. С помощью фармакологических и нейробиохимических исследований было показано участие в реализации СВА опиоидных пептидов, моноаминов, каннабиноидов, ГАМК, глутамата и других нейротрансмиттеров (Butler, Finn 2009).

Ключевой системой, активирующейся при стрессе и обеспечивающей адаптацию организма, является гипоталамо-гипофизарно-адрено-кортикальная система (ГТАКС). Один из механизмов СВА может быть связан с гормонами данной системы, при этом особая роль принадлежит гормону центрального звена ГТАКС кортикотропин-рилизинг фактору (КРФ) и глюкокортикоидным гормонам, анальгетические свойства которых хорошо известны и используются в клинике для уменьшения боли в условиях воспаления (Lariviere, Melzack 2000; Likar et al. 2007; Michaux et al. 2012).

КРФ является главным медиатором стрессорной реакции, координирующим работу нерв-

ной, эндокринной, вегетативной систем и поведения. КРФ стимулирует продукцию АКТГ/ β -эндорфина кортикотрофами передней доли гипофиза. АКТГ стимулирует продукцию глюкокортикоидных гормонов корой надпочечников. Действие КРФ опосредуется КРФ рецепторами 1 и 2 типа (КРФ-Р1 и КРФ-Р2 соответственно) (Nauger et al. 2006). Активация ГТАКС осуществляется через КРФ-Р1, тогда как КРФ-Р2 вовлекаются в контроль функциональной активности системы (Rivier et al. 2003). Цель настоящего обзора — на основании результатов собственных исследований и данных литературы проанализировать вклад в развитие СВА механизмов, связанных с КРФ и глюкокортикоидными гормонами, действие которых опосредуется КРФ-Р1 и КРФ-Р2, глюкокортикоидными и опиоидными рецепторами.

Стресс-вызванная анальгезия

СВА является адаптивной реакцией, возникающей в результате действия условных или безусловных стрессорных стимулов. Предполагается, что СВА развивалась в эволюции как один из механизмов, поддерживающих сохранение вида. Боль является биологически значимой сигнальной реакцией, возникающей при повреждении тканей или угрозе такого повреждения. Боль индуцирует поведение, способствующее заживлению травм, однако в условиях смертельной опасности или продолжающейся угрозы такое поведение не только не способствует выживанию, но может быть даже причиной гибели организма, тогда как кратковременное подавление болевой чувствительности позволяет реализовать поведенческие реакции, позволяющие избежать опасности.

СВА широко исследована в различных экспериментальных моделях на животных (Amit, Galina 1988; Butler, Finn 2009; Long et al. 2016; Pitcher 2018). Наиболее распространенными являются модели, позволяющие изменять длительность и интенсивность стрессорного воздействия, что имеет существенное значение для изучения механизмов, определяющих развитие СВА. К таким моделям относится анальгезия, вызванная плаванием, раздражением электрическим током, иммобилизацией, бегом. Наряду с физическими безусловными стимулами СВА может быть индуцирована психологическими факторами. Проявлением этого типа анальгезии является так называемая «павловская условная» анальгезия, вызванная страхом (Miguez et al. 2014). В основе ее развития лежит многократное сочетание безусловного и условного стимулов

до тех пор, пока предъявление условного стимула само по себе не будет вызывать изменение болевой чувствительности.

Проявление СВА у человека изучено в меньшей степени (Ford, Finn 2008; Diener et al. 2012; Ahmad, Zakaria 2015). Однако показано, что у человека, так же как и у животных, СВА может быть индуцирована действием как физических стрессоров (воздействие электрического тока, погружение руки в холодную воду), так и психологических стрессоров (решение арифметической задачи в сочетании с шумом, публичное выступление; предъявление паука).

Большое разнообразие типов СВА свидетельствует о том, что развитие СВА представляет собой сложный процесс, в реализацию которого вовлекается множество механизмов. Известно, что СВА может опосредоваться как опиоидными, так и неопиоидными механизмами (Lewis et al. 1980). Различают опиоидную форму СВА, которая уменьшается или устраняется после введения опиоидных антагонистов, и неопиоидную форму СВА, проявление которой не зависит от предварительного введения опиоидного антагониста (Lewis et al. 1980). Вовлечение опиоидных или неопиоидных механизмов определяется параметрами стрессорного воздействия, его природой, длительностью и интенсивностью (Watkins, Mayer 1982). Кратковременное действие стрессора вызывает, как правило, развитие неопиоидной формы СВА, тогда как увеличение его длительности приводит к опиоидной форме СВА (Lewis et al. 1980; Watkins, Mayer 1982).

Роль глюкокортикоидных гормонов в регуляции болевой чувствительности при стрессе

Развитие СВА сопровождается активацией ГГКС, проявляющейся в увеличении содержания глюкокортикоидных гормонов в плазме, что позволяет предположить участие данных гормонов в реализации СВА. Для выяснения роли глюкокортикоидных гормонов в СВА был использован традиционный метод исследования — адреналэктомия. Было показано, что адреналэктомия приводит к устранению опиоидной формы СВА, тогда как введение кортикостерона адреналэктомизированным крысам вызывало ее восстановление (Mc Lennan et al. 1982; Sutton et al. 1994). Результаты этих исследований позволили сделать вывод о перmissive роли глюкокортикоидных гормонов в развитии СВА.

Поскольку в условиях активации ГГКС наряду с АКГГ, стимулирующим продукцию глюкокортикоидных гормонов, происходит вы-

деление β -эндорфина, для понимания роли глюкокортикоидных гормонов в реализации СВА необходимо разделить участие механизмов, связанных с ГГКС, и опиоидными пептидами. Неопиоидная форма СВА, развитие которой не опосредуется опиоидными механизмами, является удобной моделью для этого исследования (Filaretov et al. 1996). СВА была индуцирована электрораздражением кожи задних конечностей у крыс в течение 3 мин (0.7 мА, 15 с вкл — 15 с выкл). Предварительное введение опиоидного антагониста налоксона в дозе 1 или 10 мг/кг не влияло на ее проявление, что свидетельствовало о том, что опиоидные механизмы не вовлекаются в реализацию данного типа СВА. Было исследовано влияние выключения ГГКС (всей системы в целом) и последующего восстановления ее активности на проявление СВА у крыс (Filaretov et al. 1996). Выключение ГГКС достигалось внутригипоталамическим введением дексаметазона, вызывающим угнетение синтеза КРФ и, следовательно, гормонов нижележащих звеньев ГГКС, АКГГ и глюкокортикоидов. Через 7 дней после введения дексаметазона наблюдалось угнетение продукции кортикостерона в плазме и устранение СВА. Через 30 дней после введения дексаметазона у тех же животных восстанавливался стрессорный подъем кортикостерона, что сопровождалось восстановлением СВА. Важный вывод, вытекающий из данных экспериментов, состоит в том, что, в отличие от опиоидной формы СВА, для развития которой имеет значение базальный уровень глюкокортикоидных гормонов, необходимым условием для развития неопиоидной формы СВА является стрессорное увеличение продукции данных гормонов. Следует отметить, что адреналэктомия также устраняла неопиоидную форму СВА, вызванную электрораздражением кожи задних конечностей у крыс, тогда как медуллоэктомия не влияла на ее проявление (Yarushkina 2008), что подтверждает значение глюкокортикоидов для развития неопиоидной формы СВА.

Таким образом, один из неопиоидных механизмов СВА может опосредоваться эндогенными глюкокортикоидами. Полученные данные демонстрируют противоболевое действие глюкокортикоидов, проявляющееся независимо от опиоидной системы в условиях острого стрессорного воздействия.

Роль КРФ в регуляции болевой чувствительности при стрессе

КРФ вызывает анальгетический эффект при его локальном, периферическом и центральном

введении (Lariviere, Melzack 2000; Yarushkina, Filaretova 2018) и вовлекается в реализацию СВА (Schaffer et al. 1996). Аналгезия, вызванная КРФ, имитирует действие стресса на соматическую болевую чувствительность. Подобно аналгезии, вызванной стрессом, аналгетический эффект КРФ может проявляться в двух формах: опиоидной и неопиоидной (Yarushkina et al. 2015a). С помощью введения опиоидного антагониста налтрексона (1 мг/кг) было показано, что вовлечение опиоидных или неопиоидных механизмов в реализацию аналгетического эффекта КРФ может быть обусловлено экспериментальными условиями, при этом важное значение могут иметь природа болевого стимула и использование наркоза. Опиоидная форма аналгетического эффекта КРФ может проявляться при действии термического стимула у бодрствующих крыс, а неопиоидная форма — при действии электрического стимула у наркотизированных крыс (Yarushkina et al. 2011; 2015a).

Один из механизмов аналгетического эффекта КРФ может быть связан с глюкокортикоидными гормонами, продуцируемыми в ответ на введение КРФ, и опосредоваться глюкокортикоидными рецепторами. Это предположение подтверждается, с одной стороны, данными, что периферическое введение гормонов всех звеньев ГТАКС (КРФ, АКТГ и глюкокортикоидов), имитирующее активацию ГТАКС при стрессе, вызывает аналгетический эффект у бодрствующих животных (Yarushkina 2008), а с другой — результатами экспериментов с использованием антагониста глюкокортикоидных рецепторов RU 38486. Предварительное введение RU 38486 приводило к устранению неопиоидной формы аналгезии, вызванной КРФ, при действии электрического стимула (Yarushkina et al. 2009; 2011) и уменьшению опиоидной формы аналгетического эффекта КРФ при действии термического стимула (Yarushkina et al. 2015a). Эти данные свидетельствуют о том, что глюкокортикоиды могут вносить вклад в реализацию обеих форм аналгезии, вызванной КРФ, однако степень их участия в реализации опиоидной и неопиоидной аналгезии может быть различна. Участие глюкокортикоидов имеет ключевое значение для проявления неопиоидной формы аналгезии, вызванной КРФ, но не является необходимым условием для проявления опиоидной формы аналгетического эффекта КРФ.

С помощью селективных антагонистов КРФ-Р1 и КРФ-Р2 рецепторов NBI 27914 и астрессина₂-В соответственно был исследован вклад КРФ-Р1

и КРФ-Р2 в реализацию аналгетического эффекта КРФ при его периферическом введении (40 мкг/кг, внутривенно) (Yarushkina et al. 2016a). Предварительное введение NBI 27914 или астрессина₂-В приводило к устранению аналгетического эффекта КРФ или уменьшению его длительности, что свидетельствует о вовлечении обоих типов КРФ рецепторов в реализацию аналгетического эффекта. Кроме того, NBI 27914 сам по себе вызывал уменьшение соматической болевой чувствительности, которое было сопоставимо по величине с эффектом КРФ и сопровождалось уменьшением содержания кортикостерона в плазме, последнее дополнительно являлось подтверждением роли КРФ-Р1 рецепторов в активации ГТАКС (Yarushkina et al. 2016a). В то же время действие астрессина₂-В не оказывало влияния ни на базальный уровень болевой чувствительности, ни на содержание кортикостерона в плазме крови (Yarushkina et al. 2016a). Эти данные позволяют предположить, что КРФ-Р1 рецепторы вносят вклад в развитие болевой реакции, тогда как КРФ-Р2 рецепторы, наоборот, вовлекаются в ее подавление. В связи с этим устранение аналгетического эффекта КРФ на фоне действия NBI 27914 может быть обусловлено блокадой передачи болевой информации через КРФ-Р1 рецепторы, тогда как уменьшение его эффекта на фоне действия астрессина₂-В обусловлено невозможностью активации КРФ-Р2 рецепторов, необходимой для подавления болевого эффекта. В то же время устранение аналгетического эффекта КРФ в условиях блокады КРФ-Р1, обеспечивающих активацию ГТАКС, может являться подтверждением вклада глюкокортикоидных гормонов в реализацию аналгетического эффекта КРФ.

Таким образом, КРФ может осуществлять координацию опиоидных и неопиоидных механизмов, обеспечивающих развитие СВА, один из которых может опосредоваться через КРФ-Р1 и КРФ-Р2 рецепторами и глюкокортикоидными рецепторами.

Центральные механизмы стресс-вызванной аналгезии: участие КРФ-Р1 и КРФ-Р2

СВА опосредуется нисходящими тормозными путями, проецирующимися в спинной мозг в составе дорсолатеральных канатиков, повреждение которых приводит к уменьшению или устранению СВА (Watkins et al. 1984). Нисходящие тормозные пути, обеспечивающие развитие СВА, берут начало в высших отделах головного

мозга, среди которых ведущее значение имеют префронтальная и инсुлярная кора больших полушарий, гипоталамус, амигдала (Butler, Finn 2009). Нейроны этих областей мозга проецируются в центральное серое вещество среднего мозга (ЦСВСМ) (Ossipov 2012). Поскольку собственные проекции ЦСВСМ в спинной мозг незначительны, влияние ЦСВСМ на ноцицептивные нейроны спинного мозга осуществляется, главным образом, через нейроны ростральной вентромедиальной (РВМ) области ствола мозга и нейроны голубого пятна, проецирующиеся в дорсальные рога спинного мозга (Ossipov 2012). В РВМ области ствола мозга обнаружены «on»- и «off»-нейроны, которые непосредственно перед проявлением болевой реакции у крыс демонстрируют усиление или угнетение нейрональной активности соответственно (Heinricher et al. 2009). Развитие анальгезии связано с возбуждением «off»-нейронов, реагирующих торможением на действие болевого стимула. Система связей ЦСВСМ — РВМ области ствола мозга с другими структурами мозга является основой для так называемой «top-down» регуляции, обеспечивающей влияние на боль когнитивных и эмоциональных факторов (Ossipov 2012).

Особую роль для развития СВА играет взаимодействие между амигдалой и ЦСВСМ (Kim et al. 2013; Li, Sheets 2018). Основой для этого взаимодействия выступают КРФ сигнальные пути, вовлекающиеся в регуляцию болевой чувствительности. В амигдале и ЦСВСМ экспрессируются оба типа рецепторов КРФ: КРФ1-Р1 и КРФ-Р2 (Hauger et al. 2006). В ЦСВСМ обнаружены нервные терминалы, содержащие агонисты КРФ1-Р1 и КРФ-Р2: КРФ или уркортин (Swanson et al. 1983), при этом главным источником КРФ в ЦСВСМ является амигдала (Gray, Magnuson 1992). Изменение экспрессии КРФ в амигдале может быть механизмом, контролирующим развитие или устранение СВА в условиях патологии (Andreoli et al. 2017). Введение КРФ в амигдалу может оказывать как про-, так и антиноцицептивное действие (Neugebauer 2015). Предварительное введение NBI 27914, селективного антагониста КРФ-Р1, устраняло проноцицептивное действие КРФ при его введении в амигдалу, тогда как предварительное введение астрессина₂-В, селективного антагониста КРФ-Р2, предотвращало антиноцицептивный эффект КРФ (Ji et al. 2013; Neugebauer 2015). Таким образом, КРФ-Р1 в амигдале обеспечивают развитие болевой реакции, тогда как роль КРФ-Р2 может быть связана с ее угнетением.

Роль ЦСВСМ в развитии СВА подтверждается многочисленными экспериментальными данными. Разрушение ЦСВСМ вызывает угнетение СВА (Helmstetter, Tershner 1994), тогда как активация ЦСВСМ, вызванная действием стрессора, наоборот, приводит к появлению анальгезии (Olango et al. 2012). Стимуляция ЦСВСМ вызывает развитие анальгезии, которая может опосредоваться как опиоидными, так и неопиоидными механизмами (Yarushkina 2008). Механизмы, обеспечивающие развитие опиоидной или неопиоидной формы анальгезии в условиях стимуляции ЦСВСМ, реализуются и в условиях стресса (Watkins, Mayer 1982). Об этом свидетельствует наличие кросс-толерантности между анальгезий, вызванной стимуляцией ЦСВСМ, и опиоидной формой анальгезии, вызванной стрессом (Terman, Liebeskind 1986).

Несмотря на то что участие ЦСВСМ в развитии СВА хорошо документировано, данные о роли КРФ-Р1 и КРФ-Р2 в ЦСВСМ в регуляции соматической болевой чувствительности немногочисленны. В отличие от амигдалы, введение КРФ в ЦСВСМ вызывало только антиноцицептивный эффект (Miguel, Nunes-De-Souza 2011; Yarushkina et al. 2016b). Предварительное введение селективного антагониста КРФ-1 рецепторов блокировало этот эффект, что свидетельствует о вовлечении КРФ-Р1 в реализацию антиноцицептивного действия КРФ. Для выяснения функциональной роли КРФ-Р2 в ЦСВСМ было исследовано влияние предварительного введения астрессина₂-В в ЦСВСМ на анальгетический эффект КРФ (Yarushkina et al. 2016b). Введение астрессина₂-В в ЦСВСМ приводило к уменьшению анальгетического эффекта, вызванного введением КРФ в ЦСВСМ. Эти данные свидетельствуют о том, что не только КРФ-Р1 в ЦСВСМ, но и КРФ-Р2 могут принимать участие в реализации анальгетического действия КРФ. Следует подчеркнуть, что КРФ-Р2 рецепторы в ЦСВСМ принимают участие в реализации опиоидной формы анальгетического эффекта КРФ, поскольку предварительное введение опиоидного антагониста налтрексона приводило к устранению анальгетического эффекта, вызванного введением КРФ в ЦСВСМ (Yarushkina et al. 2016b). Можно предположить, что КРФ-Р1 в ЦСВСМ вовлекаются в реализацию неопиоидной формы анальгетического эффекта КРФ, однако это предположение пока не исследовано.

Стимуляция ЦСВСМ вызывает активацию ГТАКС, проявляющуюся в увеличении продукции гормонов всех звеньев данной системы (Yarushkina 2008). Увеличение уровня

кортикостерона при стрессе может быть фактором, определяющим экспрессию КРФ в структурах мозга, связанных с регуляцией болевой чувствительности (Myers, Greenwood-Van Meerveld 2010). Длительное повышение уровня кортикостерона может приводить к увеличению эндогенного КРФ в амигдале, следствием чего является усиление болевой чувствительности. Имплантация кортикостерона в область амигдалы вызывает, с одной стороны, увеличение экспрессии КРФ, а с другой — уменьшение экспрессии глюкокортикоидных и минералокортикоидных рецепторов, что сопровождается усилением болевой чувствительности (Myers, Greenwood-Van Meerveld 2010). Важно отметить, что соматическая гиперчувствительность развивается только при уменьшении экспрессии глюкокортикоидных рецепторов, тогда как усиление висцеральной чувствительности наблюдалось при уменьшении экспрессии обоих типов рецепторов как глюкокортикоидных, так и минералокортикоидных (Myers, Greenwood-Van Meerveld 2010). В отличие от амигдалы, имплантация кортикостерона в ЦСВСМ приводила к анальгетическому эффекту (Yarushkina 2008), что может служить косвенным подтверждением роли обоих типов КРФ в ЦСВСМ в развитии анальгетического эффекта КРФ.

Таким образом, развитие СВА опосредуется нисходящими тормозными путями, проецирующимися в спинной мозг, в которых важная роль может принадлежать механизмам, связанным с КРФ-Р1 и КРФ-Р2, локализованным в амигдале и ЦСВСМ.

Заключение

СВА, кратковременное угнетение болевой чувствительности у животных и человека, вызванное действием стрессора, является одним из адаптивных проявлений стрессорной реакции. Развитие СВА — это результат скоординированного взаимодействия опиоидных и неопиоидных механизмов регуляции болевой чувствительности, один из которых обеспечивается глюкокортикоидными гормонами и опосредуется глюкокортикоидными рецепторами. Координирующая роль в реализации опиоидных и неопиоидных механизмов регуляции болевой чувствительности при стрессе может принадлежать КРФ, действие которого на соматическую болевую чувствительность опосредуется как опиоидными, так и неопиоидными механизмами. Оба типа КРФ рецепторов, КРФ-Р1 и КРФ-Р2, вовлекаются в реализацию анальгетического действия КРФ на болевую чувствительность

и могут вносить вклад в реализацию СВА, при этом функциональная роль этих рецепторов может быть различна.

КРФ-1 рецепторы вовлекаются в передачу болевой информации и инициацию реакции в ответ на действие болевого стимула (Hummel et al. 2010; Neugebauer 2015; Yarushkina et al. 2016a). Угнетение соматической болевой чувствительности в условиях блокады КРФ-Р1 рецепторов позволяет их рассматривать в качестве потенциальной «мишени» для действия обезболивающих средств. Об этом свидетельствует антиноцицептивное действие на соматическую болевую чувствительность антагониста КРФ-Р1 рецепторов NBI 27914 как в условиях патологии (Hummel et al. 2010), так и в норме (Yarushkina et al. 2016a).

Роль КРФ-Р2 рецепторов в регуляции соматической болевой чувствительности менее определена. Уменьшение анальгетического действия КРФ на соматическую болевую чувствительность в условиях блокады КРФ-Р2 рецепторов (Yarushkina et al. 2016b) позволяет предположить, что функциональная роль данных рецепторов состоит в ограничении действия болевого стимула, причем невозможность активации КРФ-Р2 рецепторов в условиях патологии ведет к хронизации боли (Rouwette et al. 2012).

Вовлечение КРФ-Р1 и КРФ-Р2 рецепторов в регуляцию соматической болевой чувствительности может осуществляться через ГТАКС, контроль функциональной активности которой опосредуется данными рецепторами (Rivier et al. 2003). Однако участие КРФ-Р1 и КРФ-Р2 рецепторов в реализации действия КРФ на соматическую болевую чувствительность может осуществляться и независимо от ГТАКС, что подтверждается проявлением КРФ эффектов и в условиях подавления активности ГТАКС (Ji et al. 2013).

Отсутствие СВА, изменение ее величины или длительности может быть признаком патологии. Так, анальгезия, вызванная плаванием, развивается у мышей в нормальных условиях, но не проявляется в условиях хронической боли (Andreoli et al. 2017). Этот факт объясняется увеличением экспрессии КРФ в амигдале в условиях хронической боли, тогда как уменьшение экспрессии КРФ приводит к восстановлению СВА и уменьшению боли (Andreoli et al. 2017). В то же время у пациентов с посттравматическими стресс-вызванными нарушениями наблюдалось, наоборот, увеличение СВА, сопровождающееся повышенной активацией областей мозга, связанных с развитием СВА —

префронтальной и передней инсультной коры (Diener et al. 2012). В отличие от кратковременного адаптивного угнетения болевой чувствительности, длительная гипоалгезия является признаком дисрегуляции эндогенных механизмов, контролирующей болевую чувствительность, в условиях патологии. Так, патологический процесс в желудочно-кишечном тракте, вызванный ульцерогенным действием индометацина, сопровождается длительной

соматической гипоалгезией, устранение этого процесса нормализует уровень соматической болевой чувствительности (Yarushkina et al. 2015b)

Таким образом, исследование СВА является перспективным подходом не только для понимания фундаментальных механизмов физиологии боли и стресса, но и для поиска новых терапевтических «мишеней» для лечения боли и стресс-вызванных связанных расстройств.

References

- Ahmad, A. H., Zakaria, R. (2015) Pain in times of stress. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, vol. 22 (Spec. issue), pp. 51–60. (In English)
- Amit, Z., Galina, Z. H. (1988) Stress induced analgesia plays an adaptive role in the organization of behavioral responding. *Brain Research Bulletin*, vol. 21, no. 6, pp. 955–958. DOI: 10.1016/0361-9230(88)90033-0 (In English)
- Andreoli, M., Marketkar, T., Dimitrov, E. (2017) Contribution of amygdala CRF neurons to chronic pain. *Experimental Neurology*, vol. 298 (Pt. A), pp. 1–12. DOI: 10.1016/j.expneurol.2017.08.010 (In English)
- Beecher, H. K. (1946) Pain in men wounded in battle. *Annals of Surgery*, vol. 123, no. 1, pp. 96–105. (In English)
- Butler, R. K., Finn, D. P. (2009) Stress-induced analgesia. *Progress in Neurobiology*, vol. 88, no. 3, pp. 184–202. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2009.04.003 (In English)
- Diener, S. J., Wessa, M., Ridder, S. et al. (2012) Enhanced stress analgesia to a cognitively demanding task in patients with posttraumatic stress disorder. *Journal of Affective Disorders*, vol. 136, no. 3, pp. 1247–1251. DOI: 10.1016/j.jad.2011.06.013 (In English)
- Filaretov, A. A., Bogdanov, A. I., Yarushkina, N. I. (1996) Stress-induced analgesia. The role of hormones produced by the hypophyseal-adrenocortical system. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 26, no. 6, pp. 572–578. DOI: 10.1007/bf02359502 (In English)
- Ford, G. K., Finn, D. P. (2008) Clinical correlates of stress-induced analgesia: Evidence from pharmacological studies. *Pain*, vol. 140, no. 1, pp. 3–7. PMID: 18930350. DOI: 10.1016/j.pain.2008.09.023 (In English)
- Gray, T. S., Magnuson, D. J. (1992) Peptide immunoreactive neurons in the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis project to the midbrain central gray in the rat. *Peptides*, vol. 13, no. 3, pp. 451–460. DOI: 10.1016/0196-9781(92)90074-D (In English)
- Hauger, R. L., Risbrough, V., Brauns, O., Dautzenberg, F. M. (2006) Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. *CNS & Neurological Disorders — Drug Targets*, vol. 5, no. 4, pp. 453–479. DOI: 10.2174/187152706777950684 (In English)
- Heinricher, M. M., Tavares, I., Leith, J. L., Lumb, B. M. (2009) Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Research Reviews*, vol. 60, no. 1, pp. 214–225. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2008.12.009 (In English)
- Helmstetter, F., Tershner, S. (1994) Lesions of the periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla disrupt antinociceptive but not cardiovascular aversive conditional responses. *Journal of Neuroscience*, vol. 14, no. 11, pt. 2, pp. 7099–7108. PMID: 7965101. (In English)
- Hummel, M., Cummons, T., Lu, P. et al. (2010) Pain is a salient “stressor” that is mediated by corticotropin-releasing factor-1 receptors. *Neuropharmacology*, vol. 59, no. 3, pp. 160–166. PMID: 20470804. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2010.05.001 (In English)
- Ji, G., Fu, Y., Adwanikar, H. et al. (2013) Non-pain-related CRF1 activation in the amygdala facilitates synaptic transmission and pain responses. *Molecular Pain*, vol. 9, article 2. DOI: 10.1186/1744-8069-9-2 (In English)
- Kim, E. J., Horovitz, O., Pellman, B. A. et al. (2013) Dorsal periaqueductal gray-amygdala pathway conveys both innate and learned fear responses in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 110, no. 36, pp. 14795–14800. DOI: 10.1073/pnas.1310845110 (In English)
- Lariviere, W. R., Melzack, R. (2000) The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia. *Pain*, vol. 84, no. 1, pp. 1–12. PMID: 10601667. DOI: 10.1016/s0304-3959(99)00193-1 (In English)
- Lewis, J. W., Cannon, J. T., Liebeskind, J. C. (1980) Opioid and nonopioid mechanisms of stress induced analgesia. *Science*, vol. 208, no. 4444, pp. 623–625. DOI: 10.1126/science.7367889 (In English)
- Li, J.-N., Sheets, P. L. (2018) The central amygdala to periaqueductal gray pathway comprises intrinsically distinct neurons differentially affected in a model of inflammatory pain. *Journal of Physiology*, vol. 596, no. 24, pp. 6289–6305. DOI: 10.1113/JP276935 (In English)
- Likar, R., Mousa, S. A., Steinkellner, H. et al. (2007) Involvement of intra-articular corticotropin-releasing hormone in postoperative pain modulation. *Clinical Journal of Pain*, vol. 23, no. 2, pp. 136–142. DOI: 10.1097/01.ajp.0000210954.93878.0d (In English)

- Long, C. C., Sadler, K. E., Kolber, B. J. (2016) Hormonal and molecular effects of restraint stress on formalin-induced pain-like behavior in male and female mice. *Physiology & Behavior*, vol. 165, pp. 278–285. DOI: 10.1016/j.physbeh.2016.08.009 (In English)
- McLennan, A. J., Drugan, R., Myson, R. et al. (1982) Corticosterone: a critical factor in an opioid form of stress-induced analgesia. *Science*, vol. 215, no. 4539, pp. 1530–1532. DOI: 10.1126/science.7063862 (In English)
- Michaux, G., Magerl, W., Anton, F., Treede, R.-D. (2012) Experimental characterization of the effects of acute of stresslike doses of hydrocortisone in human neurogenic hyperalgesia models. *Pain*, vol. 153, no. 2, pp. 420–428. PMID: 22178393. DOI: 10.1016/j.pain.2011.10.043 (In English)
- Miguel, T. T., Nunes-De-Souza, R. L. (2011) Anxiogenic and antinociceptive effects induced by corticotropin-releasing factor (CRF) injections into the periaqueductal gray are modulated by CRF1 receptor in mice. *Hormones and Behavior*, vol. 60, no. 3, pp. 292–300. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2011.06.004 (In English)
- Miguez, G., Laborda, M. A., Miller, R. R. (2014) Classical conditioning and pain: conditioned analgesia and hyperalgesia. *Acta Psychologica*, vol. 145, pp. 10–20. DOI: 10.1016/j.actpsy.2013.10.009 (In English)
- Myers, B., Greenwood-Van Meerveld, B. (2010) Divergent effects of amygdala glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in the regulation of visceral and somatic pain. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, vol. 298, no. 2, pp. G295–G303. DOI: 10.1152/ajpgi.00298.2009 (In English)
- Neugebauer, V. (2015) Amygdala pain mechanisms. In: H.-G. Schaible (ed.). *Pain Control*. Berlin; Heidelberg: Springer Verlag, pp. 261–284. (Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 227.) DOI: 10.1007/978-3-662-46450-2_13 (In English)
- Olango, W. M., Roche, M., Ford, G. K. et al. (2012) The endocannabinoid system in the rat dorsolateral periaqueductal grey mediates fear-conditioned analgesia and controls fear expression in the presence of nociceptive tone. *British Journal of Pharmacology*, vol. 165, no. 8, pp. 2549–2560. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01478.x (In English)
- Ossipov, M. H. (2012) The perception and endogenous modulation of pain. *Scientifica (Cairo)*, vol. 2012, article ID 561761. DOI: 10.6064/2012/561761 (In English)
- Pitcher, M. H. (2018) The impact of exercise in rodent models of chronic pain. *Current Osteoporosis Reports*, vol. 16, no. 4, pp. 344–359. DOI: 10.1007/s11914-018-0461-9 (In English)
- Rivier, C. L., Grigoriadis, D. E., Rivier, J. E. (2003) Role of corticotropin-releasing factor receptors type 1 and 2 in modulating the rat adrenocorticotropin response to stressors. *Endocrinology*, vol. 144, no. 6, pp. 2396–2403. DOI: 10.1210/en.2002-0117 (In English)
- Rouwette, T., Vanelderen, P., Roubos, E. W. et al. (2012) The amygdala, a relay station for switching on and off pain. *European Journal of Pain*, vol. 16, no. 6, pp. 782–792. DOI: 10.1002/j.1532-2149.2011.00071.x (In English)
- Schafer, M., Mousa, S. A., Zhang, Q. et al. (1996) Expression of corticotropin-releasing factor in inflamed tissue is required for intrinsic peripheral opioid analgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no. 12, pp. 6096–6100. DOI: 10.1073/pnas.93.12.6096 (In English)
- Sutton, L. C., Fleshner, M., Mazzeo, R. et al. (1994) A permissive role of corticosterone in an opioid form of stress-induced analgesia: Blockade of opiate analgesia is not due to stress-induced hormone release. *Brain Research*, vol. 663, no. 1, pp. 19–29. DOI: 10.1016/0006-8993(94)90458-8 (In English)
- Swanson, L. W., Sawchenko, P. E., Rivier, J. et al. (1983) Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: An immunohistochemical study. *Neuroendocrinology*, vol. 36, no. 3, pp. 165–186. DOI: 10.1159/000123454 (In English)
- Terman, G. W., Liebeskind, J. C. (1986) Relation of stress-induced analgesia to stimulation-produced analgesia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 467, no. 1, pp. 300–308. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1986.tb14636.x (In English)
- Watkins, L. R., Drugan, R., Hyson, R. L. et al. (1984) Opiate and non-opiate analgesia induced by inescapable tail-shock: Effects of dorsolateral funiculus lesions and decerebration. *Brain Research*, vol. 291, no. 2, pp. 325–336. DOI: 10.1016/0006-8993(84)91265-4 (In English)
- Watkins, L. R., Mayer, D. J. (1982) Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems. *Science*, vol. 216, no. 4551, pp. 1185–1192. DOI: 10.1126/science.6281891 (In English)
- Yarushkina, N. I. (2008) The role of hypothalamo-hypophyseal-adrenocortical system hormones in controlling pain sensitivity. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 38, no. 8, pp. 759–766. DOI: 10.1007/s11055-008-9044-z (In English)
- Yarushkina, N. I., Filaretova, L. P. (2018) The peripheral corticotropin-releasing factor (CRF)-induced analgesic effect on somatic pain sensitivity in conscious rats: Involving CRF, opioid and glucocorticoid receptors. *Inflammopharmacology*, vol. 26, no. 2, pp. 305–318. DOI: 10.1007/s10787-018-0445-5 (In English)
- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2009) Analgesic actions of corticotropin-releasing factor (CRF) on somatic pain sensitivity: involvement of glucocorticoid and CRF-2 receptors. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 39, no. 9, pp. 819–823. DOI: 10.1007/s11055-009-9212-9 (In English)
- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2011) Central corticotropin-releasing factor (CRF) may attenuate somatic pain sensitivity through involvement of glucocorticoids. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 62, no. 5, pp. 541–548. PMID: 22204802. (In English)

- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2015a) Mechanisms of the analgesic action of corticotrophin-releasing factor on somatic pain sensitivity in rats. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 45, no. 4, pp. 449–457. DOI: 10.1007/s11055-015-0095-7 (In English)
- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2015b) Somatic pain sensitivity in rats exposed to the harmful actions of indomethacin on the gastrointestinal tract. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 45, no. 7, pp. 780–788. (In English)
- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2016a) Effects of corticotropin-releasing factor (CRF) on somatic pain sensitivity in conscious rats: Involvement of types 1 and 2 CRF receptors. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 46, no. 4, pp. 472–477. DOI: 10.1007/s11055-016-0260-7 (In English)
- Yarushkina, N. I., Bagaeva, T. R., Filaretova, L. P. (2016b) Involvement of corticotropin-releasing factor receptors type 2, located in periaqueductal gray matter, in central and peripheral CRF-induced analgesic effect on somatic pain sensitivity in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 67, no. 4, pp. 595–603. (In English)

Фармакологическое прекондиционирование

М. Ю. Зенько¹, Е. А. Рыбникова^{✉1}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

Сведения об авторах

Зенько Михаил Юрьевич,
SPIN-код: 8129-3948,
ORCID: 0000-0002-9868-0598,
e-mail: zenkomy@infran.ru

Рыбникова Елена Александровна,
SPIN-код: 9663-4704,
ORCID: 0000-0002-8956-726X,
e-mail: rybnikova@infran.ru

Для цитирования:

Зенько, М. Ю., Рыбникова, Е. А.
(2020) Фармакологическое
прекондиционирование.

Интегративная физиология,
т. 1, № 1, с. 32–39. DOI:
10.33910/****-****-2020-1-1-32-39

Получена 5 июля 2019; прошла
рецензирование 4 сентября 2019;
принята 12 сентября 2019.

Финансирование: Поддержано
грантом РФФИ №19-015-00336.

Права: © Авторы (2020).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Прекондиционирование — это применение различных превентивных воздействий с целью повышения устойчивости отдельных органов или организма в целом к повреждающим факторам. Существует два основных подхода прекондиционирования — немедикаментозный, основанный на применении физических факторов умеренной интенсивности (гипоксия/ишемия, холодовой и тепловой стресс и др.), и медикаментозный, получивший название *фармакологическое прекондиционирование*. Как следует из названия, фармакологическое прекондиционирование осуществляется путем превентивного использования различных фармакологических агентов и в настоящее время рассматривается как перспективный подход для обеспечения кардио- и нейропротекции. В частности, предварительная фармакологическая подготовка может быть удобна для операционных клинических сценариев. Многие фармакологические агенты, предлагаемые для прекондиционирования, уже имеют многолетний опыт применения в клинике. Данные фармакологические агенты могут использоваться и для иных целей. Например, это ингаляционные анестетики, антибиотики, опиоиды. Другими группами веществ, рассматриваемых для фармакологического прекондиционирования, являются агенты бактериального и эндогенного происхождения: стероидные гормоны, липополисахарид, дефероксамин, эритромицин, тромбин, эритропоэтин. С трансляционной точки зрения тот факт, что профили безопасности многих из этих веществ хорошо изучены и проверены, должен облегчать их быстрое клиническое внедрение и применение. Тем не менее, несмотря на то что многие виды фармакологического прекондиционирования доказали свою эффективность и значительный потенциал в модельных исследованиях на животных, большинство из них еще не изучены в клинических условиях. Таким образом, технологии фармакологического прекондиционирования имеют высокий трансляционный потенциал, проблема недостаточности клинических исследований в этой области является крайне актуальной, а ее решение и внедрение данных технологий в клинику может стать прорывом в превентивной медицине. Цель настоящего обзора — привлечь внимание широкого круга исследователей и клиницистов к данной проблеме в надежде, что это будет способствовать активному продвижению к ее решению.

Ключевые слова: фармакологическое прекондиционирование, нейропротекция, кардиопротекция, трансляционная медицина.

Pharmacological preconditioning

M. Yu. Zenko¹, E. A. Rybnikova^{✉1}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

Authors

Mikhail Yu. Zenko, SPIN: 8129-3948, ORCID: 0000-0002-9868-0598, e-mail: zenkomy@infran.ru

Elena A. Rybnikova, SPIN: 9663-4704, ORCID: 0000-0002-8956-726X, e-mail: rybnikovaea@infran.ru

For citation: Zenko, M. Yu., Rybnikova, E. A. (2020) Pharmacological preconditioning. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 32–39. DOI: 10.33910/****_****_2020-1-1-32-39

Received 5 July 2019; reviewed 4 September 2019; accepted 12 September 2019.

Funding: This research received grant support from the Department of Social Science and Humanities of the Russian Foundation for Basic Research, grant no. 19-015-00336.

Copyright: © The Authors (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Preconditioning is the use of preventive actions to increase the resistance of individual organs or the body as a whole to damaging factors. There are two main approaches for preconditioning — non-drug, based on the use of physical factors of moderate intensity (hypoxia/ischemia, cold stress or heat-shock, etc.) and drug, called “pharmacological preconditioning”. As the name implies, pharmacological preconditioning is carried out through the preventive use of various pharmacological agents and is now considered as a promising approach to ensure cardio- and neuroprotection. In particular, pre-pharmacological preparation may be convenient for surgical clinical scenarios. Many pharmacological agents offered for preconditioning have already been clinical use for many years, however, for purposes other than preconditioning, e.g. inhalation anesthetics, antibiotics, and opioids. Other groups of substances considered for pharmacological preconditioning are agents of bacterial and endogenous origin: steroid hormones, lipopolysaccharide, deferoxamine, erythromycin, thrombin, and erythropoietin. From a translational point of view, safety profiles of many of these substances are well studied and tested which could facilitate their rapid clinical implementation and application. However, despite the fact that many types of pharmacological preconditioning have proven to be effective and have significant potential in animal model studies, most of them have not yet been studied in a clinical setting. Thus, considering high translational potential of pharmacological preconditioning technologies and marked insufficiency of clinical studies in this area the implementation of these technologies in the clinic can become a breakthrough in preventive medicine. The purpose of this review is to draw the attention of a wide range of researchers and clinicians to this issue in the hope that it will encourage the professional community to actively engage in search for a solution.

Keywords: pharmacological preconditioning, neuroprotection, cardioprotection, translational medicine.

Введение

Преко́ндициони́рование (ПК) — предварительная экспозиция различных факторов, приводящая к повышению адаптационных резервов организма. Основу механизмов преко́ндициони́рования составляет индукция/активация эндогенных защитных стратегий для минимизации повреждений, индуцируемых последующими негативными воздействиями. ПК путем аппликации различных фармакологических веществ называется фармакологическим и рассматривается как перспективный подход для обеспечения защиты различных органов, включая мозг. Несмотря на то что для целевого и эффективного применения ПК необходимо заранее предвидеть дальнейшее повреждающее воздействие, существует большое количество клинических ситуаций, которые позволяют это сделать. Наглядным примером являются плановые операции: при шунтировании коронарной

артерии частота внутриоперационного инсульта колеблется от 1,6 до 5,2% (Arrowsmith et al. 2000). Другим примером может служить каротидная эндартерэктомия, внутриоперационная частота развития инсульта для этой операции колеблется от 0,25 до 7% (Allain et al. 2005), причем большинство таких инсультов происходят в пределах эффективного временного окна преко́ндициони́рования. Предварительная фармакологическая подготовка, преко́ндициони́рование, как представляется, может быть очень полезна для этих клинических сценариев.

Многие фармакологические агенты, предлагаемые для преко́ндициони́рования, уже имеют многолетний опыт применения в клинике, но в других самых разнообразных сферах: это летучие анестетики, антибиотики, агонисты опиоидных рецепторов (Lim et al. 2004; Koerner et al. 2007). С трансляционной точки зрения хорошо изученные и проверенные профили безопасности многих из этих веществ

облегчают их быстрое клиническое внедрение и применение. Исследования на животных подобных фармакологических агентов показали нейропротективные эффекты, по результативности аналогичные ишемическому preconditionированию (Ahmed et al. 2000).

Основными группами веществ, которые можно использовать для фармакологического ПК, являются: фармакологические агенты бактериального происхождения (липополисахарид, дефероксамин, эритромицин), лекарственные средства (опиоиды и каннабиноиды), ингаляционные анестетики (изофлуран и другие фторсодержащие анестетики, ксенон, закись азота), эндогенные агенты (помимо хорошо изученных кортикостероидов (Hall 1992), эстрогенов и прогестинов (Roof and Hall 2000), это эритропоэтин и тромбин).

Бактериальные фармакологические агенты

Липополисахарид

Липополисахарид (ЛПС), мощный эндотоксин, который играет ведущую роль в развитии граммотрицательного сепсиса (Davies and Cohen 2011), неотъемлемый компонент клеточной стенки граммотрицательных бактерий, может являться примером потенциально повреждающего экзогенного природного соединения. Однако применение preconditionирования с ЛПС в эксперименте снижало последующие повреждения головного мозга в животных моделях ишемического инсульта (Ahmed et al. 2000). Также в экспериментах на сердце применение ЛПС улучшало кровоток миокарда при инфаркте, наиболее вероятно это было опосредовано повышением экспрессии эндотелиальной NO-синтазы (Furuu et al. 2005). Предполагается, что фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), который представляется ключевым звеном воспалительного ответа во время инсультов, инфарктов и инфекции (Tuttolomondo et al. 2008), является одним из возможных медиаторов обнаруженной нейропротекции. В то время как большие концентрации TNF- α ассоциируются с провоспалительным повреждающим воздействием при инсульте и, соответственно, более худшим клиническим прогнозом (Tuttolomondo et al. 2008), данный цитокин в меньших количествах может обладать протективным действием за счет уменьшения повреждений, опосредованных свободными радикалами, — с помощью индукции супероксиддисмутазы и ингибирования апоптоза (Mallard and Hagberg 2007).

Дефероксамин

Ионы железа играют существенную роль при черепно-мозговых травмах и ишемическом/геморрагическом инсульте, катализируя образование свободных радикалов (Hua et al. 2006). Активные формы кислорода вызывают обширный окислительный стресс и перекисное окисление липидов мозга (Selim 2009). Высокий уровень железа в мозгу коррелирует с выраженностью окислительных повреждений (Palmer et al. 1994). Дефероксамин, выделенный из *Streptomyces pilosus*, является сильным хелатором ионов железа (Kerberle 1964) и используется в клинике для лечения состояний, при которых необходимо выведение железа, например при гемохроматозе или его передозировке. Дефероксамин свободно проникает через гематоэнцефалический барьер и ингибирует железо-опосредованное образование свободных радикалов (Halliwell 1989; Nakamura et al. 2003; Selim 2009). Введение дефероксамина приводит к активации транскрипционной активности гипоксия-индуцибельного фактора 1 (HIF-1) (Semenza 2000; Prass et al. 2003), что, по-видимому, происходит через ингибирование пролил-гидроксилазной активности (Siddiq et al. 2008), уменьшает формирование отека, снижает неврологический дефицит и уровни маркеров окислительного повреждения ДНК в моделях крыс с внутримозговым кровоизлиянием (Nakamura et al. 2003).

Эритромицин

Эритромицин, выделенный в 1952 г. из *Streptomyces erythreus*, представляет собой широко применяемый антибиотик из группы макролидов для лечения грамположительных инфекций (McKendrick 1979). Нарушает синтез бактериальных белков путем связывания с 50S субъединицей рибосом и относительно легко переносится пациентами (Straughan 1978). Широкое применение антибиотиков в современной клинической практике делает их крайне привлекательными в качестве preconditionирующих агентов. Исследования на крысах показали, что при ПК с использованием эритромицина при ишемических инсультах отмечается достоверное снижение гибели нейронов гиппокампа и теменной коры (Brambrink et al. 2006), а также уменьшение уровней цитокинов/хемокинов, мощных медиаторов воспалительного повреждения нейронов (Koerner et al. 2007).

Лекарственные средства

Опиоиды

ПК с применением морфина оказывает выраженное нейропротективное действие, при этом снижается уровень гибели клеток Пуркинье в срезах мозжечка крыс, подвергшихся ишемии (Lim et al. 2004). Исследования также показали, что опиоиды могут иметь отсроченный кардиопротективный эффект: объем инфаркта у крыс, получавших морфин за 24 ч до ишемии, был достоверно уменьшен (Lehmann 1997). Наиболее вероятными мишенями, через которые протекает подобная нейро- и кардиопротекция, являются дельта-опиоидные рецепторы. Активация дельта-опиоидных рецепторов защищает нейроны коры от глутамат-индуцированного повреждения (Zhang et al. 2006), причем протекция, вероятно, идет через HIF-1-опосредованные транскрипционные пути (Peng et al. 2009). Исследования с различными опиоидными антагонистами показывают, что различные типы опиоидных рецепторов активируются в острый и отсроченный периоды. Так, антагонисты дельта-опиоидных рецепторов убирают быструю фазу, а селективные антагонисты мю-рецепторов убирают отсроченную фазу нейропротекции (Zhao et al. 2006). Другим фактором нейропротекции может быть улучшение кровотока в ишемических регионах: у крыс, получивших ПК с фентанилом, значительно увеличился церебральный кровоток в ишемических областях (Chi et al. 2010). Также опиоидное прекондиционирование снижает ЛПС-опосредованные повреждения мозга (Gwaks et al. 2010), что говорит о его влиянии на воспалительные механизмы повреждения мозга.

Каннабиноиды

Исследования нейропротективного действия каннабиноидов показали ингибирование глутаматергической синаптической передачи в гиппокампе крыс, что защищает нейроны от эксайтотоксичности (Shen et al. 1996; Shen and Thayer 1998). Анандамид, тетрагидроканнабинол (ТГК) или синтетический агонист CB1-рецепторов WIN-55212 снижали клеточную смерть нейронов гиппокампа крыс в культуре клеток (Gilbert et al. 2007) и при ишемии (Nagayama et al. 1999), а их антагонист, AM251, блокировал подобную нейропротекцию (Koch et al. 2011). Leker и др. (2003) сообщили, что CB1-агонист HU-210 уменьшил объем повреждений после окклюзии средней мозговой артерии. Однократное введение ТГК увеличило фосфорилирование Akt-киназы в гиппокампе, стриатуме и мозжечке

мышей, этот эффект был блокирован избирательным CB1-антагонистом римонабантом (Ozaita et al. 2007). Активация PI3K/Akt пути может модулировать экспрессию и активность генов, участвующих в выживании клеток, обеспечивая CB1-индуцированную нейропротекцию, которую вызывают эндогенные и синтетические CB1-агонисты. Они могут рассматриваться как мощный модулятор заболеваний ЦНС, для которых характерны воспаление и аутоиммунность (Centonze et al. 2007). Активация CB2-рецепторов, находящихся преимущественно на ненейрональных клетках, синтетическими агонистами O-3853 и O-1966 значительно ослабляет процессы активации лейкоцитов и их адгезии к эндотелию (Pacher and Hasko 2008; Stella 2010), уменьшая воспаление. Способность каннабиноидов регулировать просвет сосудов, в том числе головного мозга, может быть другим возможным механизмом, с помощью которого они оказывают защитное действие (Golech et al. 2004).

Ингаляционные анестетики

Летучие анестетики являются основными анестетиками в клинической практике (Clergue et al. 1999). Наиболее часто используются фторсодержащие ингаляционные анестетики изофлуран, севофлуран и их аналоги. Для прекондиционирования возможно применять также ксенон и закись азота. Исследования с использованием переживающих срезов головного мозга крыс показало, что изофлуран ослабляет нейротоксичность AMPA (Li et al. 2002), а активность нейропротективного эффекта летучих анестетиков хорошо коррелирует с потенцией этих анестетиков для индукции анестезии (Zheng and Zuo 2003). Использование изофлурана являлось эффективным методом прекондиционирования головного мозга крыс (Park et al. 2005; Sang et al. 2006). Прекондиционирование с ксеноном также изучалось на переживающих срезах гиппокампа мышей (Bantel et al. 2009). Подобная нейропротекция может быть опосредована активацией митохондриальных K^+ /АТФ каналов (Bantel et al. 2009), выдвигались гипотезы о роли CREB, Bcl-2, Akt и HIF-1a (Luo et al. 2008), помимо классического действия ксенона как неспецифического антагониста NMDA-рецепторов. Закись азота, как было показано, оказывает выраженный кардиопротективный эффект (Weber et al. 2005), вопрос же нейропротективного действия ПК с закисью азота требует изучения.

Существующие данные о гендерных и возрастных различиях нейропротекции ПК с ингаляционными анестетиками (Kitano et al. 2007)

требуют повышенного внимания и дальнейшего изучения для развития так называемой «индивидуальной медицины», постепенно входящей в клиническую практику.

Эндогенные агенты

Эритропоэтин

Эритропоэтин (ЭПО), важный компонент эритропоэза, продуцируемый во взрослом организме преимущественно в почках. Ингибируя апоптоз предшественников эритроцитов, ЭПО увеличивает выработку красных кровяных телец. Помимо почек также была обнаружена экспрессия генов его рецептора и самого ЭПО в мозгу (Marti et al. 1996), причем активация эндогенной экспрессии ЭПО при ишемии, как полагают, играет важную роль в нейропротективном эффекте ишемического preconditionирования. Предполагается, что, как и при эритропоэзе, он осуществляет нейропротекцию через свое антиапоптотическое действие: при ишемическом стрессе астроциты высвобождают ЭПО, что приводит к повышенной нейрональной устойчивости к последующей ишемии (Prass et al. 2003).

Эритропоэтин является перспективным агентом в качестве терапевтического средства, так как он относительно безопасен и хорошо переносится пациентами (Eid, Brines 2002), легко проникает через гематоэнцефалический барьер (Eid, Brines 2002), что позволяет применять его системное введение, а его нейропротективный эффект проявляется в течение нескольких минут (Ruscher et al. 2002) и может длиться до трех суток (Dawson 2001).

Эритропоэтин достоверно повышает уровень глутатионпероксидазы (Kumral et al. 2005), стимулирует ангиогенез (Hasselblatt et al. 2006), уменьшает количество провоспалительных цитокинов (Villa et al. 2003).

Хотя первоначальные клинические испытания эритропоэтина при ишемическом инсульте показали перспективные результаты (Ehrenreich et al. 2002), более поздние исследования продемонстрировали отсутствие терапевтической выгоды и увеличение смертности (Ehrenreich et al. 2009).

Тромбин

Тромбин играет важную роль в каскаде коагуляции (Coughlin 2000). И хотя подавляющее большинство протромбина синтезируется в печени, протромбин также экспрессируется в клетках центральной нервной системы, причем в ишемических моделях на животных показано увеличение его количества (Riek-Burchardt et al. 2002); отек мозга ослабляется применением

ингибиторов тромбина (Lee et al., 1996), а в модели ишемического инсульта внутриартериальное введение тромбина приводило к достоверно большему повреждению (Chen et al. 2010). Также тромбин играет важную роль в воспалительной реакции после травм головного мозга (Nishino et al. 1993) и может потенцировать работу NMDA-рецепторов, усиливая эксайто-токсичность (Hamill et al. 2009).

Однако, по аналогии с ЛПС, введение низких доз тромбина продемонстрировало выраженное нейро- и кардиопротективное действие. Тромбиновое preconditionирование уменьшает отек мозга (Xi et al. 2000) и уровень поведенческих нарушений в моделях церебральной ишемии (Masada et al. 2000). Введение антагониста тромбинового рецептора ухудшало эффективность тромбинового ПК, что, по-видимому, свидетельствует о значимости активации тромбином своего рецептора для развития протекции (Jiang et al. 2002). Также низкие дозы тромбина вызывают активацию белка теплового шока 27 (Hsp27) (Xi et al. 1999), который также имеет антиапоптотические свойства (Stetler et al. 2009).

Очевидная зависимость эффектов от дозы введения тромбина усложняет его изучение и клиническое применение. В настоящее время не ясно, является ли двойственная природа действия тромбина результатом активации различных путей или единого механизма.

Заключение

Обобщая вышеописанное, следует отметить, что фармакологическое ПК несомненно имеет большие перспективы для снижения заболеваемости и смертности, связанных с ишемическими и геморрагическими инсультами. Однако, несмотря на то что исследования продолжаются, остаются многие препятствия для осуществления фармакологического ПК в клинических условиях. Многие потенциальные агенты, например ЛПС, имеют низкий терапевтический индекс. Другой осложняющий фактор — нарушение работы гематоэнцефалического барьера, что часто наблюдается при инсульте, — фактор, который может сделать точную дозировку системных агентов трудной и изменить токсичность некоторых агентов (Chen et al. 2010). Хотя многие виды фармакологического ПК показали перспективные результаты в моделях на животных, большинство из них еще не изучены в клинических условиях, а некоторые, как ЛПС и эритропоэтин, имели неоднозначные, дозозависимые, результаты (Ehrenreich et al. 2009). Преимущества этого метода несомненны, но чтобы реализовать его потенциал, необходимы дальнейшие исследования.

References

- Ahmed, S. H., He, Y. Y., Nassief, A. et al. (2000) Effects of lipopolysaccharide priming on acute ischemic injury. *Stroke*, vol. 31, no. 1, pp. 193–199. PMID: 10625737. DOI: 10.1161/01.str.31.1.193 (In English)
- Allain, R., Marone, L. K., Meltzer, J. et al. (2005) Carotid endarterectomy. *International Anesthesiology Clinics*, vol. 43, no. 1, pp. 15–38. PMID: 15632515. DOI: 10.1097/01.aia.0000150279.00355.6c (In English)
- Arrowsmith, J. E., Grocott, H. P., Reves, J. G. et al. (2000) Central nervous system complications of cardiac surgery. *British Journal of Anaesthesia*, vol. 84, no. 3, pp. 378–393. DOI: 10.1093/oxfordjournals.bja.a013444 (In English)
- Bantel, C., Maze, M., Trapp, S. (2009) Neuronal preconditioning by inhalational anesthetics: evidence for the role of plasmalemmal adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Anesthesiology*, vol. 110, no. 5, pp. 986–995. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31819dad7 (In English)
- Brambrink, A. M., Koerner, I. P., Diehl, K. et al. (2006) The antibiotic erythromycin induces tolerance against transient global cerebral ischemia in rats (pharmacologic preconditioning). *Anesthesiology*, vol. 104, no. 6, pp. 1208–1215. PMID: 16732092. DOI: 10.1097/00000542-200606000-00016 (In English)
- Centonze, D., Bari, M., Rossi, S. et al. (2007) The endocannabinoid system is dysregulated in multiple sclerosis and in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*, vol. 130, pt. 10, pp. 2543–2553. PMID: 17626034. DOI: 10.1093/brain/awm160 (In English)
- Chen, B., Cheng, Q., Yang, K. et al. (2010) Thrombin mediates severe neurovascular injury during ischemia. *Stroke*, vol. 41, no. 10, pp. 2348–2352. PMID: 20705928. DOI: 10.1161/STROKEAHA.110.584920 (In English)
- Chi, O. Z., Hunter, C., Chokshi, S. K. et al. (2010) Effects of fentanyl pretreatment on regional cerebral blood flow in cerebral ischemia in rats. *Pharmacology*, vol. 85, no. 3, pp. 153–157. PMID: 20150753. DOI: 10.1159/000269811 (In English)
- Clergue, F., Auroy, Y., Péquignot, F. et al. (1999) French survey of anesthesia in 1996. *Anesthesiology*, vol. 91, no. 5, pp. 1509–1520. (In English)
- Coughlin, S. R. (2000) Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature*, vol. 407, no. 6801, pp. 258–264. PMID: 10551604. DOI: 10.1097/00000542-199911000-00045 (In English)
- Davies, B., Cohen, J. (2011) Endotoxin removal devices for the treatment of sepsis and septic shock. *Lancet Infectious Diseases*, vol. 11, no. 1, pp. 65–71. PMID: 21183148. DOI: 10.1016/S1473-3099(10)70220-6 (In English)
- Dawson, T. M. (2001) Preconditioning-mediated neuroprotection through erythropoietin? *Lancet*, vol. 359, no. 9301, pp. 96–97. PMID: 11809248. DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07335-X (In English)
- Ehrenreich, H., Hasselblatt, M., Dembowski, C. et al. (2002) Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Molecular Medicine*, vol. 8, no. 8, pp. 495–505. PMID: 12435860. (In English)
- Ehrenreich, H., Weissenborn, K., Prange, H. et al. (2009) Recombinant human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke. *Stroke*, vol. 40, no. 12, pp. 647–656. DOI: 10.1161/strokeaha.109.564872 (In English)
- Eid, T., Brines, M. (2002) Recombinant human erythropoietin for neuroprotection: What is the evidence? *Clinical Breast Cancer*, vol. 3, suppl. 3, pp. S109–S115. PMID: 12533271. (In English)
- Furuya, K., Zhu, L., Kawahara, N. et al. (2005) Differences in infarct evolution between lipopolysaccharide-induced tolerant and nontolerant conditions to focal cerebral ischemia. *Journal of Neurosurgery*, vol. 103, no. 4, pp. 715–723. DOI: 10.3171/jns.2005.103.4.0715 (In English)
- Gilbert, G. L., Kim, H. J., Waataja, J. J., Thayer, S. A. (2007) Delta9-tetrahydrocannabinol protects hippocampal neurons from excitotoxicity. *Brain Research*, vol. 1128, no. 1, pp. 61–69. PMID: 17140550. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.03.011 (In English)
- Golech, S. A., McCarron, R. M., Chen, Y. et al. (2004) Human brain endothelium: Coexpression and function of vanilloid and endocannabinoid receptors. *Molecular Brain Research*, vol. 132, no. 1, pp. 87–92. PMID: 15548432. DOI: 10.1016/j.molbrainres.2004.08.025 (In English)
- Gwaks, M. S., Li, L., Zuo, Z. (2010) Morphine preconditioning reduces lipopolysaccharide and interferon-gamma-induced mouse microglial cell injury via delta 1 opioid receptor activation. *Neuroscience*, vol. 167, no. 2, pp. 256–260. PMID: 20156527. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.02.017 (In English)
- Hall, E. D. (1992) The neuroprotective pharmacology of methylprednisolone. *Journal of Neurosurgery*, vol. 76, no. 1, pp. 13–22. (In English)
- Halliwell, B. (1989) Protection against tissue damage in vivo by desferrioxamine: what is its mechanism of action? *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 7, no. 6, pp. 645–651. PMID: 2695408. DOI: 10.1016/0891-5849(89)90145-7 (In English)
- Hamill, C. E., Mannaioni, G., Lyuboslavsky, P. et al. (2009) Protease-activated receptor 1-dependent neuronal damage involves NMDA receptor function. *Experimental Neurology*, vol. 217, no. 1, pp. 136–146. PMID: 19416668. DOI: 10.1016/j.expneurol.2009.01.023 (In English)
- Hasselblatt, M., Ehrenreich, H., Sirén, A. L. (2006) The brain erythropoietin system and its potential for therapeutic exploitation in brain disease. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, vol. 18, no. 2, pp. 132–138. PMID: 16628067. (In English)
- Hua, Y., Nakamura, T., Keep, R. F. et al. (2006) Long-term effects of experimental intracerebral hemorrhage: the role of iron. *Journal of Neurosurgery*, vol. 104, no. 2, pp. 305–312. PMID: 16509506. DOI: 10.3171/jns.2006.104.2.305 (In English)

- Jiang, Y., Wu, J., Hua, Y. et al. (2002) Thrombin-receptor activation and thrombin-induced brain tolerance. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 22, no. 4, pp. 404–410. PMID: 11919511. DOI: 10.1097/00004647-200204000-00004 (In English)
- Keberle, H. (1964) The biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 119, pp. 758–768. PMID: 14219455. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1965.tb54077.x (In English)
- Kitano, H., Kirsch, J. R., Hurn, P. D. et al. (2007) Inhalational anesthetics as neuroprotectants or chemical preconditioning agents in ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 27, no. 6, pp. 1108–1128. PMID: 17047683. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600410 (In English)
- Koch, M., Kreutz, S., Bottger, C. et al. (2011) The cannabinoid WIN 55,212–2-mediated protection of dentate gyrus granule cells is driven by CB₁ receptors and modulated by TRPA1 and Ca_v2.2 channels. *Hippocampus*, vol. 21, no. 5, pp. 554–564. DOI: 10.1002/hipo.20772 (In English)
- Koerner, I. P., Gattling, M., Noppens, R. et al. (2007) Induction of cerebral ischemic tolerance by erythromycin preconditioning reprograms the transcriptional response to ischemia and suppresses inflammation. *Anesthesiology*, vol. 106, no. 3, pp. 538–547. PMID: 17325513. DOI: 10.1097/00000542-200703000-00019 (In English)
- Kumral, A., Gonenc, S., Acikgoz, O. et al. (2005) Erythropoietin increases glutathione peroxidase enzyme activity and decreases lipid peroxidation levels in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Biology of the Neonate*, vol. 87, no. 1, pp. 15–18. PMID: 15334031. DOI: 10.1159/000080490 (In English)
- Lehmann, K. A. (1997) Opioids: Overview on action, interaction and toxicity. *Supportive Care in Cancer*, vol. 5, no. 6, pp. 439–444. DOI: 10.1007/s005200050111 (In English)
- Leker, R. R., Shohami, E. (2002) Cerebral ischemia and trauma-different etiologies yet similar mechanisms: Neuroprotective opportunities. *Brain Research Reviews*, vol. 39, no. 1, pp. 55–73. PMID: 12086708. (In English)
- Li, J., Zheng, S., Zuo, Z. (2002) Isoflurane decreases AMPA-induced dark cell degeneration and edematous damage of Purkinje neurons in the rat cerebellar slices. *Brain Research*, vol. 958, no. 2, pp. 399–404. PMID: 12470876. DOI: 10.1016/S0006-8993(02)03700-9 (In English)
- Lim, Y. J., Zhen, S., Zuo, Z. (2004) Morphine preconditions Purkinje cells against cell death under *in vitro* simulated ischemia-reperfusion conditions. *Anesthesiology*, vol. 100, no. 3, pp. 562–568. PMID: 15108969. DOI: 10.1097/00000542-200403000-00015 (In English)
- Luo, Y., Ma, D., Jeong, E. et al. (2008) Xenon and sevoflurane protect against brain injury in a neonatal asphyxia model. *Anesthesiology*, vol. 109, no. 5, pp. 782–789. PMID: 18946288. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181895f88 (In English)
- Mallard, C., Hagberg, H. (2007) Inflammation-induced preconditioning in the immature brain. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, vol. 12, no. 4, pp. 280–286. PMID: 17327146. DOI: 10.1016/j.siny.2007.01.014 (In English)
- Marti, H. H., Wenger, R. H., Rivas, L. A. et al. (1996) Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain. *European Journal of Neuroscience*, vol. 8, no. 4, pp. 666–676. PMID: 9081618. DOI: 10.1111/j.1460-9568.1996.tb01252.x (In English)
- Masada, T., Xi, G., Hua, Y., Keep, R. F. (2000) The effects of thrombin preconditioning on focal cerebral ischemia in rats. *Brain Research*, vol. 867, no. 1–2, pp. 173–179. DOI: 10.1016/S0006-8993(00)02302-7 (In English)
- McKendrick, M. W. (1979) Erythromycin revisited. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 5, no. 5, pp. 495–497. PMID: 387701. DOI: 10.1093/jac/5.5.495 (In English)
- Nagayama, T., Sinor, A. D., Simon, R. P. et al. (1999) Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *Journal of Neuroscience*, vol. 19, no. 8, pp. 2987–2995. PMID: 10191316. (In English)
- Nakamura, T., Keep, R. F., Hua, Y. G. et al. (2003) Deferoxamine-induced attenuation of brain edema and neurological deficits in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Neurosurgical Focus*, vol. 15, no. 4, article ECP4. PMID: 15344903. DOI: 10.3171/jns.2004.100.4.0672 (In English)
- Nishino, A., Suzuki, M., Motohashi, O. et al. (1993) Thrombin may contribute to the pathophysiology of central nervous system injury. *Journal of Neurotrauma*, vol. 10, no. 2, pp. 167–179. PMID: 7692071. DOI: 10.1089/neu.1993.10.167 (In English)
- Ozaita, A., Puighermanal, E., Maldonado, R. (2007) Regulation of PI3K/Akt/GSK-3 pathway by cannabinoids in the brain. *Journal of Neurochemistry*, vol. 102, no. 4, pp. 1105–1114. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2007.04642.x (In English)
- Pacher, P., Haskó, G. (2008) Endocannabinoids and cannabinoid receptors in ischaemia reperfusion injury and preconditioning. *British Journal of Pharmacology*, vol. 153, no. 2, pp. 252–262. PMID: 18026124. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707582 (In English)
- Palmer, C., Roberts, R. L., Bero, C. (1994) Deferoxamine posttreatment reduces ischemic brain injury in neonatal rats. *Stroke*, vol. 25, no. 5, pp. 1039–1045. PMID: 8165675. DOI: 10.1161/01.str.25.5.1039 (In English)
- Park, H. P., Jeon, Y. T., Hwang, J. W. et al. (2005) Isoflurane preconditioning protects motor neurons from spinal cord ischemia: Its dose-response effects and activation of mitochondrial adenosine triphosphate-dependent potassium channel. *Neuroscience Letters*, vol. 387, no. 2, pp. 90–94. DOI: 10.1016/j.neulet.2005.06.072 (In English)

- Peng, P. H., Huang, H. S., Lee, Y. J. et al. (2009) Novel role for the delta-opioid receptor in hypoxic preconditioning in rat retinas. *Journal of Neurochemistry*, vol. 108, no. 3, pp. 741–754. PMID: 19054276. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05807.x (In English)
- Prass, K., Scharff, A., Ruscher, K. et al. (2003) Hypoxia-induced stroke tolerance in the mouse is mediated by erythropoietin. *Stroke*, vol. 34, no. 8, pp. 1981–1986. PMID: 12829864. DOI: 10.1161/01.STR.0000080381.76409.B2 (In English)
- Riek-Burchardt, M., Striggow, F., Henrich-Noack, P. et al. (2002) Increase of prothrombin-mRNA after global cerebral ischemia in rats, with constant expression of protease nexin-1 and protease-activated receptors. *Neuroscience Letters*, vol. 329, no. 2, pp. 181–184. PMID: 12165407. DOI: 10.1016/S0304-3940(02)00645-6 (In English)
- Roof, R. L., Hall, E. D. (2000) Gender differences in acute CNS trauma and stroke: Neuroprotective effects of estrogen and progesterone. *Journal of Neurotrauma*, vol. 17, no. 5, pp. 367–388. PMID: 10833057. DOI: 10.1089/neu.2000.17.367 (In English)
- Sang, H., Cao, L., Qiu, P. et al. (2006) Isoflurane produces delayed preconditioning against spinal cord ischemic injury via release of free radicals in rabbits. *Anesthesiology*, vol. 105, no. 5, pp. 953–960. PMID: 17065889. DOI: 10.1097/00000542-200611000-00016 (In English)
- Selim, M. (2009) Deferoxamine mesylate: A new hope for intracerebral hemorrhage: from bench to clinical trials. *Stroke*, vol. 40, suppl. 3, pp. s90–s91. PMID: 19064798. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.533125 (In English)
- Semenza, G. L. (2000) HIF-1: Mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, vol. 88, no. 4, pp. 1474–1480. PMID: 10749844. DOI: 10.1152/jappl.2000.88.4.1474 (In English)
- Siddiq, A., Aminova, L. R., Ratan, R. R. (2008) Prolyl 4-hydroxylase activity-responsive transcription factors: From hydroxylation to gene expression and neuroprotection. *Frontiers in Bioscience*, vol. 13, pp. 2875–2887. PMID: 17981760. DOI: 10.2741/2892 (In English)
- Stella, N. (2010) Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia*, vol. 58, no. 9, pp. 1017–1030. PMID: 20468046. DOI: 10.1002/glia.20983 (In English)
- Stetler, R. A., Gao, Y., Signore, A. P. et al. (2009) HSP27: Mechanisms of cellular protection against neuronal injury. *Current Molecular Medicine*, vol. 9, no. 7, pp. 863–872. PMID: 19860665. DOI: 10.2174/156652409789105561 (In English)
- Straughan, J. L. (1978) Another look at erythromycin. *South African Medical Journal*, vol. 54, no. 14, pp. 527–530. PMID: 354037. (In English)
- Tuttolomondo, A., Di Raimondo, D., di Sciacca, R. et al. (2008) Inflammatory cytokines in acute ischemic stroke. *Current Pharmaceutical Design*, vol. 14, no. 33, pp. 3574–3589. DOI: 10.2174/138161208786848739 (In English)
- Villa P., Bigini P., Mennini T. et al. (2003) Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *Journal of Experimental Medicine*, vol. 198, no. 6, pp. 971–975. PMID: 12975460. DOI: 10.1084/jem.20021067 (In English)
- Weber, N. C., Toma, O., Awan, S. et al. (2005) Effects of nitrous oxide on the rat heart in vivo: Another inhalational anesthetic that preconditions the heart? *Anesthesiology*, vol. 103, no. 6, pp. 1174–1182. PMID: 16306729. DOI: 10.1097/00000542-200512000-00011 (In English)
- Xi, G., Hua, Y., Keep, R. F. et al. (2000) Induction of colligin may attenuate brain edema following intracerebral hemorrhage. In: A. D. Mendelow, A. Baethmann, Z. Czernicki et al. (eds.). *Brain Edema XI. Acta Neurochirurgica Supplements*. Vol. 76. Vienna: Springer, pp. 501–505. (In English)
- Xi, G., Keep, R. F., Hua, Y. et al. (1999) Attenuation of thrombin-induced brain edema by cerebral thrombin preconditioning. *Stroke*, vol. 30, no. 6, pp. 1247–1255. PMID: 10356108. DOI: 10.1161/01.str.30.6.1247 (In English)
- Zhang, J., Qian, H., Zhao, P. et al. (2006) Rapid hypoxia preconditioning protects cortical neurons from glutamate toxicity through delta-opioid receptor. *Stroke*, vol. 37, no. 4, pp. 1094–1099. PMID: 16514101. DOI: 10.1161/01.STR.0000206444.29930.18 (In English)
- Zhao, P., Huang, Y., Zuo, Z. (2006) Opioid preconditioning induces opioid receptor-dependent delayed neuroprotection against ischemia in rats. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, vol. 65, no. 10, pp. 945–952. PMID: 17021399. DOI: 10.1097/01.jnen.0000235123.05677.4b (In English)
- Zheng, S., Zuo, Z. (2003) Isoflurane preconditioning reduces Purkinje cell death in an *in vitro* model of rat cerebellar ischemia. *Neuroscience*, vol. 118, no. 1, pp. 99–106. PMID: 12676141. DOI: 10.1016/s0306-4522(02)00767-4 (In English)

Роль кинуренинов в регуляции поведения и процессов памяти у дрозофилы

А. В. Журавлев¹, Е. А. Никитина^{✉1, 2}, Е. В. Савватеева-Попова¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
191186, Россия, Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

Сведения об авторах

Журавлев Александр
Владимирович, SPIN-код:
3366-7956, Scopus AuthorID:
56603096400, e-mail: beneor@mail.ru

Никитина Екатерина
Александровна, SPIN-код: 7844-
8621, Scopus AuthorID:
56603106300, ORCID: 0000-0003-
1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

Савватеева-Попова Елена
Владимировна, SPIN-код: 2559-
4778, Scopus AuthorID: 6603078303,
e-mail: esavvateeva@mail.ru

Для цитирования:

Журавлев, А. В., Никитина, Е. А.,
Савватеева-Попова, Е. В. (2020)
Роль кинуренинов в регуляции
поведения и процессов памяти
у дрозофилы. *Интегративная
физиология*, т. 1, № 1, с. 40–50. DOI:
10.33910/****-****-2020-1-1-40-50

Получена 10 июня 2019; прошла
рецензирование 30 июня 2019;
принята 1 июля 2019.

Финансирование: Работа
поддержана грантом РФФИ
18-34-00761 (анализ спонтанной
локомоторики и уровня ЗНОК)
и Программой фундаментальных
научных исследований
государственных академий на 2013–
2020 годы (ГП-14, раздел 63).

Права: © Авторы (2020).
Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Метаболиты кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ), или кинуренины, обладают рядом нейроактивных свойств. Нарушения КПОТ наблюдаются при различных заболеваниях нервной системы, таких как болезни Хантингтона, Паркинсона и Альцгеймера, старческое слабоумие, шизофрения, депрессивные состояния и др. Известны два основных механизма воздействия кинуренинов на процессы в нервных клетках — модуляция активности клеточных рецепторов и модуляция окислительно-восстановительного потенциала. Так, кинуреновая кислота (KYNA) является неспецифическим антагонистом ионотропных рецепторов глутамата и ингибитором эксайтотоксических процессов. 3-гидроксикинуренин (ЗНОК) ингибирует перекисное окисление липидов, но в высокой концентрации вследствие окислительной аутодимеризации вызывает гиперпродукцию пероксида водорода, что приводит к гибели нервных клеток. Молекулярные механизмы нейроактивности кинуренинов удобно исследовать на простых модельных объектах, таких как пчела и дрозофила, мутации генов КПОТ у которых они специфически влияют на содержание кинуренинов. Удобство использования мутантов дрозофилы для изучения нейротропных свойств кинуренинов определяется рядом обстоятельств: 1) отсутствие пути синтеза NAD^+ из ЗНОК у насекомых и, следовательно, влияния дефектов КПОТ на энергетический метаболизм; 2) отсутствие у насекомых ряда метаболитов КПОТ, таких как хинолиновая кислота, потенцирующая нейротоксические свойства ЗНОК; 3) высокий уровень ЗНОК в организме в силу необходимости синтезировать в большом количестве пигмент ксантомматин; 4) методическая простота проведения генетических, физиологических и молекулярно-биологических исследований. Накопление ЗНОК у мутанта *cardinal (cd)* дрозофилы вызывает нарушение брачной песни самца и развитие синаптической патологии на поздних сроках жизни имаго. Кроме того, у *cd* наблюдается возраст-зависимое нарушение среднесрочной памяти в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания. Вышеуказанное позволяет рассматривать *cd* как модель сенильной деменции у человека. Напротив, у мутанта *cinnabar (cn)* с накоплением KYNA отмечено позитивное влияние данного нейротропного вещества на память и звукопродукцию. В целом продукты КПОТ оказывают активирующее действие на ЦНС и поведенческие процессы.

Ключевые слова: кинуренины, дрозофила, 3-гидроксикинуренин, кинуреновая кислота, память.

Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in *Drosophila*

A. V. Zhuravlev¹, E. A. Nikitina^{✉1,2}, E. V. Savvateeva-Popova¹

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

Authors

Aleksandr V. Zhuravlev, SPIN: 3366-7956, Scopus AuthorID: 56603096400, e-mail: beneor@mail.ru

Ekaterina A. Nikitina, SPIN: 7844-8621, Scopus AuthorID: 56603106300, ORCID: 0000-0003-1897-8392, e-mail: 21074@mail.ru

Elena V. Savvateeva-Popova, SPIN: 2559-4778, Scopus AuthorID: 6603078303, e-mail: esavvateeva@mail.ru

For citation:

Zhuravlev, A. V., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2020) Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in *Drosophila*. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 40–50. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-40-50

Received 10 June 2019; reviewed 30 June 2019; accepted 1 July 2019.

Funding: The research is supported by Russian Foundation for Basic Research (Grant no. 18-34-00761) and by Programme of Basic Research in Russian State Academies for years 2013–2020 (National Program no. 14, section 63).

Copyright: © The Authors (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Metabolites of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism (KPTM) or kynurenines, have a number of neuroactive properties. Disturbances of KPTM are observed in various neuropathologies, such as Huntington, Parkinson, and Alzheimer's diseases, senile dementia, schizophrenia, depressions, etc. Kynurenines are known to impact processes in nervous cells through two mechanisms — modulation of activity of cellular receptors and modulation of oxidation-reduction potential. Kynurenic acid (KYNA) is a nonspecific antagonist of the ionotropic glutamate receptors and an inhibitor of excitotoxicity. 3-hydroxykynurenine (3HOK) inhibits peroxide oxidation of lipids, but in high concentration owing to an oxidizing autodimerization causes hydrogen peroxide hyperproduction that leads to death of nervous cells. It is convenient to investigate molecular mechanisms of kynurenine neuroactivity on simple model objects, such as bee and *Drosophila*, where mutations of KPTM genes affect the level of kynurenines. There are several reasons why *Drosophila* mutants make a good choice to study kynurenine neurotropic properties: 1) Insects do not synthesize NAD from 3HOK, hence, no influence of KPTM defects on power metabolism; 2) Insects do not have certain KPTM metabolites, such as quinolinic acid, which potentiates neurotoxic properties of 3HOK; 3) High level of 3HOK as a response to the synthesis of xanthommatin pigment; 4) Simple methodology of genetic, physiological, molecular and biological research. In *Drosophila cardinal* (*cd*) mutant, the accumulation of 3HOK causes irregularities in a male courtship song and the development of synaptic pathology in late stages of imago development. Besides, in *cd* the age-dependent disturbance of medium-term memory in a paradigm of the conditioned courtship suppression is observed. The above allows to consider *cd* a model of senile dementia in humans. On the contrary, in *cinnabar* (*cn*) mutant with the accumulation of KYNA this neuroprotector has a positive impact on memory and sound production. In general, KPTM products have an activating effect on central nervous system and behavioral processes.

Keywords: kynurenines, *Drosophila*, 3-hydroxykynurenine, kynurenic acid, memory.

Кинурениновый путь обмена триптофана

Кинурениновый путь обмена триптофана (КПОТ) — магистральный путь катаболизма этой аминокислоты в организме человека (~95%) (Badawy 2017). Около 90% триптофана (TRP) метаболизируется по КПОТ в печени, начиная с окислительного разрушения индольного кольца триптофана с участием фермента триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO). В мозге ключевым ферментом КПОТ является индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO). Название пути дает его первый стабильный продукт — кинуренин (KYN). Конечный продукт КПОТ у млекопитающих — никотинамидадениндинуклеотид (NAD⁺), важ-

нейший кофермент окислительно-восстановительных реакций (Schwarcz et al. 2012).

Кинуренины обладают широким спектром нейротропных эффектов у позвоночных и беспозвоночных животных (Лапин 2004). Изменения уровня метаболитов КПОТ у человека наблюдаются при ряде неврологических и психических заболеваний (Schwarcz et al. 2012). В крови страдающих болезнью Альцгеймера (БА), а также в сыворотке и цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) при болезни Паркинсона (БП) в результате стимуляции IDO γ-интерфероном повышается уровень KYN/TRP (Widner et al. 2000; 2002). При шизофрении наблюдается повышение уровня кинуреновой кислоты (KYNA)

в префронтальной коре (Wonodi, Schwarcz 2010). Хинолиновая кислота (QUIN) в мозге усиливает глутаматергическую нейротрансмиссию и возбудимость центральной нервной системы (ЦНС), KYNA оказывает противоположное действие (Foster et al. 1984). У пациентов с суицидальными попытками уровень QUIN/KYNA в цереброспинальной жидкости повышен более чем в два раза (Bryleva, Brundin 2017). На ранней стадии болезни Хантингтона (БХ) в неокортексе и неостриатуме повышается уровень QUIN и 3-гидроксикинуренина (ЗНОК) (Guidetti et al. 2004). Суммарный эффект кинуренинов на активность ЦНС определяется соотношением концентраций возбуждающих метаболитов КПОТ (QUIN, KYN, ЗНОК) и их антагонистов (KYNA, 3-оксипируват, никотинамид) (Лапин 2004). Повышение уровня отдельных метаболитов КПОТ в организме человека — характерный маркер ряда заболеваний: антрилиловая кислота (АА) — сахарного диабета 1-го типа (Oxenkrug et al. 2015), ксантуреновая кислота (ХАА) и KYNA — сахарного диабета 2-го типа (Oxenkrug 2015). Дисрегуляция КПОТ ведет к развитию дефицита внимания и гиперактивности (Aarsland et al. 2015), кардиоваскулярного синдрома (Mangge 2014) и к формированию катаракты (Flieger et al. 2018).

Широкий спектр патологических процессов, в которые вовлечены метаболиты КПОТ, вызывает вопрос, является ли действие кинуренинов специфичным, а активация КПОТ — системным механизмом ответа на стресс при заболеваниях ЦНС. Причина ряда нейрологических заболеваний — развитие воспалительных процессов в мозге, сопровождающееся выбросом цитокинов и активацией клеток иммунной системы. К числу главных мишеней провоспалительных цитокинов относятся метаболические пути, влияющие на синтез моноаминовых нейротрансмиттеров — КПОТ и путь деградации тетрагидробиоптерина, кофактора ключевых ферментов синтеза серотонина и дофамина. Цитокины влияют на ганглии ЦНС, снижая уровень мотивации и моторной активности, что ведет к развитию депрессии. Основной биологический смысл этого механизма — снижение у больного затрат энергии на исследовательскую активность, при этом уровень тревожности возрастает, что обеспечивает защиту от потенциальных врагов (Miller et al. 2013). Многие ферменты КПОТ регулируются провоспалительными цитокинами: IDO и кинуренин-3-монооксигеназа (КМО), превращающая KYN в ЗНОК, активируются γ -интерфероном (Campbell et al. 2014). Таким образом, активация КПОТ

при воспалении носит дефензивный характер, но в тяжелых случаях может приводить к развитию эксайтотоксичности и нейропсихиатрических расстройств.

Непосредственная роль кинуренинов в развитии нейрологических заболеваний доказана с использованием ингибиторов ферментов КПОТ. КМО является перспективной мишенью в терапии ряда нейродегенеративных заболеваний (БА, БП, БХ), а также депрессии и шизофрении (Parrot et al. 2015). Ингибирование КМО у незрелых крыс сдвигает метаболизм КПОТ в сторону нейропротектанта KYNA, повышая его уровень в мозге и печени, одновременно снижая уровень ЗНОК и QUIN (Ceresoli-Borroni et al. 2007). У мутанта дрозофилы, моделирующего БХ, воздействие экзогенного TRP снижает уровень ЗНОК/KYNA, а подавление TDO повышает уровень KYNA, оказывая нейропротективный эффект.

Нейротоксические эффекты ЗНОК можно проследить у ряда простых объектов, моделирующих БХ. У дрожжей повышение уровня ЗНОК сопровождается генерацией АФК (активных форм кислорода) в клетках (Giorgini et al. 2005). У мутанта дрозофилы *htt* уровень ЗНОК/KYNA в головах повышен в 2–3 раза, однако его токсичность проявляется в присутствии мутантного белка хантингтина (НТТ). Ингибирование КМО снижает уровень нейродегенерации, степень нейропротекции коррелирует со снижением уровня ЗНОК/KYNA. Ингибирование TDO также оказывает нейропротективное действие на *htt* (Green et al. 2012). Таким образом, дисбаланс метаболитов КПОТ у дрозофилы не просто коррелирует с развитием заболеваний нервной системы, но и является одной из непосредственных причин их развития.

Нейроактивность кинуренинов

Известны два основных молекулярных механизма нейроактивности кинуренинов — модуляция активности клеточных рецепторов и модуляция окислительно-восстановительных процессов в нервной клетке. KYN может связываться с NR1-субъединицей NMDA рецептора (NMDAR) в качестве агониста (Stone 1991). QUIN является агонистом, а KYNA — конкурентным антагонистом NMDAR с наибольшим сродством к глициновому сайту субъединицы NR1 (el-Defrawy et al. 1986; Danysz et al. 1989). KYNA также проявляет свойства неконкурентного антагониста $\alpha 7$ никотиновых ацетилхолиновых рецепторов ($\alpha 7$ nAChR) (Hilmas et al. 2001). KYNA является агонистом рецептора GPR35,

мобилизуя внутриклеточный кальций и продукцию инозитолфосфата (Wang et al. 2006). Циннабаровая кислота (CIN), продукт димеризации 3-гидроксиантраниловой кислоты (ЗНАА), взаимодействует с субъединицей метаболитного рецептора глутамата mGluR4 в качестве агониста (Fazio et al. 2012).

ЗНАА и ЗНОК обладают свойствами антиоксидантов, подавляя перекисное окисление липидов в липосомах на 50 % в концентрации 1 мкМ и на 100 % в концентрациях 2 и 5 мкМ, при 1 ч воздействия (Christen et al. 1990). Антиоксидантная активность обусловлена наличием в составе ароматического кольца боковой 3-ОН группы, способной легко отщеплять электрон и атом водорода (Никитина и др. 2018; Zhuravlev et al. 2016). Вместе с тем окислительная аутодимеризация ЗНОК (1–10 мкМ) сопровождается генерацией пероксида водорода и иных АФК, вызывая гибель нервных клеток при воздействии на них ЗНОК на временном интервале 24–48 ч (Okuda et al. 1996; 1998). ЗНАА также способна к аутодимеризации с формированием супероксид анион-радикала на первом этапе окисления (Iwahashi et al. 1988). АФК нарушают целостность структуры клеточных мембран, белков и ДНК, приводя к гибели клеток (Valiko et al. 2007).

Налицо двоякий эффект ЗНОК: при воздействии *in vitro* на срезы стриатума данное вещество способно проявлять себя и как антиоксидант (100 мкМ), и как умеренный нейротоксин (5–20 мкМ). Эффекты воздействия ЗНОК зависят как от его концентрации, так и от времени

аппликации. Нейропротективные эффекты ЗНОК связаны с его способностью индуцировать активность ряда белков антиоксидантной защиты, таких как супероксиддисмутаза и глутатион-S-трансфераза (Colín-González et al. 2014). Двойственный эффект З-НОК на окислительно-восстановительные процессы в клетке предсказан с помощью квантово-химических расчетов. По мере димеризации ЗНОК и ЗНАА возрастает способность их продуктов передавать электрон или атом водорода свободным радикалам, ингибируя их. Вместе с тем повышается способность димеров восстанавливать молекулярный кислород до токсических АФК — гидропероксильного радикала, пероксида водорода и супероксид-анион-радикала. Ферментативный путь димеризации ЗНОК с участием феноксазиносинтетазы (PHS) препятствует образованию в каталитическом сайте пероксида водорода, обеспечивая защиту клеток от АФК, тогда как при неферментативном пути димеризации пероксид водорода и иные АФК являются побочными продуктами димеризации (Zhuravlev et al. 2018).

Уровни метаболитов КПОТ в органах и тканях представлены в таблице 1, константы физиологического воздействия кинуренинов на нейроны и клеточные рецепторы — в таблице 2. Приведенные факты вызывают сомнения в способности кинуренинов в физиологических концентрациях оказывать значимое воздействие на процессы ЦНС млекопитающих и человека. Для KYNA вероятной молекулярной мишенью является $\alpha 7$ nAChR (IC₅₀ 7 мкМ) (Hilmas et al. 2001).

Табл. 1 Уровни метаболитов КПОТ в органах и тканях*

Table 1. Level of KPTM metabolites in organs and tissue*

Вещество	Примерная концентрация (мкМ)	Организм, орган/среда	Ссылка
Trp	$2 \cdot 10^3$	Человек, ЦСЖ	Raison et al. 2010
KYN	$6 \cdot 10^{-2}$	Человек, ЦСЖ	Raison et al. 2010
KYNA	$5 \cdot 10^{-3}$	Человек, ЦСЖ	Raison et al. 2010
QUIN	$3 \cdot 10^{-3}$	Человек, ЦСЖ	Raison et al. 2010
ЗНОК	$1,8 \cdot 10^{-3}$	Человек, ЦСЖ	Raison et al. 2010
Trp	10–35	Мышь, мозг	Fuertig et al. 2016
KYN	0,1–0,2	Мышь, мозг	Fuertig et al. 2016
ЗНОК	$4 \cdot 10^{-2}$ – $9 \cdot 10^{-2}$	Мышь, мозг	Fuertig et al. 2016
KYNA	$1,78 \cdot 10^{-2}$	Крыса, мозг	Moroni et al. 1988
KYNA	0,15	Человек, кора мозга	Moroni et al. 1988
KYNA	0,14	Человек, мозжечок	Turski et al. 1988
KYNA	1,6	Человек, хвостатое ядро	Turski et al. 1988
ЗНАА	0,155	Человек, фронтальная кора	Pearson et al. 1995
ЗНОК	$6,2 \cdot 10^2$	Дрозофила (<i>Oregon-R</i>), зрелая куколка	Howells et al. 1977
ЗНОК	$1,7 \cdot 10^3$	Дрозофила (<i>cardinal</i>), зрелая куколка	Howells et al. 1977

* При оценках концентрации метаболитов КПОТ в мозговой ткани и в куколках дрозофилы плотность ткани считали приблизительно равной 1 мг/мл.

Табл. 2. Константы физиологического воздействия кинуренинов на нейроны и клеточные рецепторы
Table 2. Constants of physiological impact of kynurenines on neurons and cell receptors

Метаболит	Константа	Мишень	Организм, ткань	Ссылка
	IC 50 (мкМ)	Рецептор		
KYNA	7	$\alpha 7$ nAChR	Крыса, нейроны гиппокампа	Hilmas et al. 2001
KYNA	15 /2,35*10 ² с 10 мкМ глицина	NR1 NMDAR	Крыса, нейроны гиппокампа	Hilmas et al. 2001
KYNA	10	NR1 NMDAR	Крыса, конечный мозг	Kessler et al. 1989
KYNA	43	NR1 NMDAR	Крыса, синаптическая мембрана	Danysz et al. 1989
	EC 50 (мкМ)	Рецептор		
KYNA	39,2	GPR35	Человек, культура клеток	Wang et al. 2006
KYNA	7,4	GPR35	Крыса, культура клеток	Wang et al. 2006
	C (мкМ)	% гибнущих нейронов		
ЗНОК	1 – 10 – 10 ²	~50 – 65 – 100	Крысы, культуры нейронов стри-атума	Okuda et al. 1996
ЗНАА	20	~58	Крысы, культуры нейронов стри-атума	Okuda et al. 1998

Нейрофизиологическая активность кинуренинов у дрозофилы

Важные сведения о нейрофизиологической активности кинуренинов получены на беспозвоночных животных, таких как дрозофила и пчела. У мутантов КПОТ *Drosophila melanogaster* данный путь специфически блокирован на той или иной стадии (рис. 1), что приводит к изменению в организме мухи как общего уровня кинуренинов, так и их соотношений.

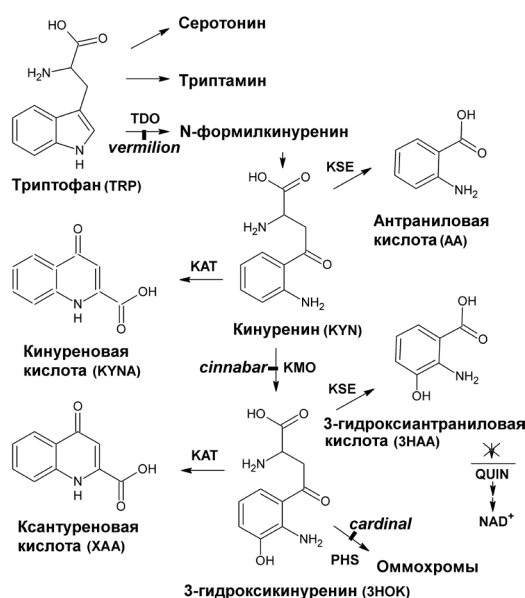


Рис. 1. Кинурениновый путь обмена триптофана у дрозофилы

Fig. 1. The kynurenine pathway of tryptophan metabolism in *Drosophila*

У линии *vermilion* (*v*) КПОТ полностью блокирован за счет мутации в гене ключевого фермента TDO (Linzen et al. 1974; Summers et al. 1982), а уровень TRP увеличивается в 6 раз (Ryall, Howells 1974). Превращение N-формил-кинуруенина в KYN происходит неферментативно или с участием фермента кинуруенинформамидазы. У линии *cinnabar* (*cn*) неактивен фермент КМО и происходит накопление KYN, а также KYNA, уровень которой в головах имаго повышен вдвое. Аккумуляция KYNA происходит только в тканях головы, начинаясь при формировании глаз, достигая максимума через день после вылета из куколки и оставаясь постоянной на протяжении почти всей жизни имаго (Ferré 1983). У линии *cardinal* (*cd*) неактивен фермент PHS, и уровень ЗНОК в зрелых куколках повышен почти втрое (Howells et al. 1977). Кинуруенинаминотрансфераза (КАТ) осуществляет превращение KYN в KYNA и ЗНОК в ХАА, а кинуруениназа (KSE) превращает KYN в АА и ЗНОК в ЗНАА (присутствует в малом количестве). Путь синтеза QUIN из ЗНОК у насекомых не функционирует (Linzen et al. 1974). Конечный продукт КПОТ у дрозофилы не NAD⁺, а коричневые пигменты глаз оммохромы, в первую очередь ксантомматин (ХАН), синтезируемый из ЗНОК путем его димеризации. Отсутствие ЗНОК и ХАН у *v* и *cn* обуславливает ярко-красный цвет глаз у имаго. У *cd* димеризация ЗНОК может протекать неферментативно, что со временем приводит к потемнению глаз у мух данной линии. Аккумуляция субстратов неактивных ферментов в организме достигает

максимума в период между окукливанием и вылетом имаго (Summers et al. 1982).

Усредненная концентрация ЗНОК в организме дрозофилы достигает ~0,62 мМ у дикого типа *Oregon-R* и ~1,7 мМ у *cd* (Howells et al. 1977), что более чем достаточно для генерации АФК и развития нейротоксических процессов. Возможно, этому препятствует компартментализация ЗНОК: у личинок он локализован в основном в мальпигиевых сосудах, у развивающихся имаго — в глазах (Summes et al. 1982). Оммохромы у насекомых содержатся в пигментных клетках сетчатки глаз в особой структуре — оммохромасоме, куда из цитозоля клетки осуществляется транспорт предшественника пигмента (ЗНОК) и где локализован фермент PHS (Summers et al. 1982; Figon, Casas 2019). При этом ряд исследователей высказывают сомнение, что за фенотип *cd* отвечает нарушение гена PHS (Wiley, Forrest 1981; Figon, Casas 2019). В тканях голов дрозофилы ЗНОК может формировать комплексы с белками, возможно, входящими в состав пигментных гранул. Для *cd* показано существенное снижение уровня таких комплексов сравнительно с диким типом *Canton-S* (*CS*) на интервале 5–29 сут взрослой жизни. Возможно, это обусловлено нарушением специфического процесса конъюгации ЗНОК-белок, что влечет за собой аккумуляцию свободного ЗНОК в тканях голов *cd*. Спонтанная димеризация ЗНОК и гиперпродукция АФК инициирует у *cd* развитие окислительного стресса. Показано снижение общей антиоксидантной активности в головах *cd* сравнительно с *CS* (Zhuravlev et al. 2018).

Влияние кинуренинов на поведение дрозофилы

У мутантов КПОТ дрозофилы и пчелы наблюдается ряд физиологических и поведенческих изменений. У мутанта пчелы *snow* (гомолог *v*) показано падение спонтанной нервной активности головного и грудного ганглиев и снижение нервно-мышечной возбудимости. У мутанта *ivory* (гомолог *sn*) с 10–15-кратным увеличением KYN (Linzen 1974) существенно повышена нервно-мышечная возбудимость. У мутанта дрозофилы *sn* KYN в основном метаболизируется в KYNA, что может обуславливать его физиологические и поведенческие отличия от *ivory*. Накопление KYN усиливает поведенческую активность пчел, а избыток ЗНОК у мутанта *brick* (гомолог *cd*) или отсутствие продуктов КПОТ, напротив, ослабляют ее (Лопатина и др. 2004). Дефицит кинуренинов ингибирует долго-

временную память у пчелы (Lopatina et al. 2011). Избыток KYN способствует выработке условного рефлекса на ольфакторный стимул с пищевым подкреплением. Избыток ЗНОК на ранних стадиях онтогенеза действует подобно KYN, а на поздних вызывает снижение функциональной активности ЦНС. KYNA ($3 \cdot 10^{-4}$ М) подавляет активность ЦНС у пчелы, ХАА — также, но в меньшей степени (Savvateeva 1991). Таким образом, на пчеле показан стимулирующий (KYN) и ингибирующий (KYNA, ХАА) эффекты метаболитов КПОТ, эффекты же ЗНОК зависят от конкретного процесса и от стадии развития.

Мутанты КПОТ дрозофилы различаются реакцией на стресс и своими электрофизиологическими характеристиками. У *v* наблюдается снижение частоты спонтанных импульсов в шейной коннективе, тиббиальном нерве и торакальном ганглии, у *sn* частота импульсов увеличивается, а у *cd* нет отличий от дикого типа. У *v* и *sn* наблюдается усиление первичной реакции на иммобилизационный стресс, у *cd* данная реакция угнетается; при этом торможение первичной реакции спустя 10 мин отсутствует у *v*, а у *sn* выражено больше, чем у дикого типа (Лопатина и др. 2004).

Среди мутантов КПОТ дрозофилы самое низкое значение двигательной активности показано для самок *v* сравнительно с *CS*, *sn* и *cd* на протяжении 10 дней. У *sn* после 3 сут жизни двигательная активность ниже, чем у *CS*, а для *cd* она выше, чем у *CS*, вплоть до 6 сут. Для *v* характерна наиболее высокая продолжительность жизни (~64 сут) сравнительно с *CS* (~48 сут) и *cd* (~42 сут), что может быть обратно связано с физической активностью мух. При этом у *sn* продолжительность жизни самая низкая, что указывает на токсические эффекты накопления KYNA у дрозофилы (Kamyshev 1980).

Вышеуказанные данные не вполне соответствуют тем, что были получены путем анализа спонтанной двигательной активности (СДА) одиночного самца на интервале 1 ч. У *v* процент времени, проведенного в движении, на 5 и 21–29 сут выше, чем у *CS*, *sn* и *cd*. 5 сут *cd* не отличаются от дикого типа, у 13 и 21 сут *cd* скорость побежки выше, чем у *CS*, а на 40 сут большинство параметров СДА у *cd* ниже, что, возможно, связано с возраст-зависимым развитием нейроденегерации. У взрослых *sn* процент активности и скорость побежки снижены (Zakharov et al. 2012). Различные результаты экспериментов, возможно, обусловлены разницей методов анализа двигательной активности: в опытах Н. Г. Камышева поведение мух тестировали

на самках (ген *v* в X хромосоме; возможность эффекта дозы гена) и в составе группы, где неотъемлемым компонентом является социальная активность. При этом оценивали только процент мух, находящихся в движении, без анализа отдельно взятых компонентов СДА. В данном случае был показан стимулирующий эффект КПОТ на двигательную активность. При этом у *си* в обоих случаях наблюдается стабильное снижение двигательной активности, вероятно, вследствие накопления ингибитора ЦНС KYNA. С помощью методов компьютерного моделирования было показано, что KYNA способна связываться с NR1 NMDAR дрозофилы с константой связи, близкой к таковой у млекопитающих (Zhuravlev et al. 2012).

У стареющих *cd* наблюдаются искажения брачной песни самца при ухаживании за самкой: нестабильность формы и амплитуды звуковых импульсов, а также числа импульсов в послышке. У *си* подобных нарушений памяти и звукопродукции не наблюдается, однако возрастает доля би- и полициклических импульсов. 29 сут *CS* способны генерировать нормальную импульсную и синусоидальную песни (Savvateeva-Porova et al. 2003). Таким образом, для *cd* и, в меньшей степени, для *си* характерны возраст-зависимые нарушения брачной песни самца.

Влияние кинуренинов на память у дрозофилы

Память у позвоночных и беспозвоночных животных представляет собой сложный многостадийный процесс: каждая из его фаз во времени регулируется специфическими генами и белками, а ее материальной основой служат структурно-функциональные изменения в определенных участках мозга (Журавлев и др. 2015). Если сохранение памяти на ранних стадиях связано с активацией внутриклеточных сигнальных каскадов, в частности систем метаболизма цАМФ (Davis, Kiger 1981), то консолидация памяти и формирование ДСП требует активации новых генов, в том числе регулируемых цАМФ-зависимым транскрипционным фактором CREB (Bailey et al. 1996). Формирование различных видов памяти напрямую зависит от длительности обучения: у дрозофилы для выработки среднесрочной памяти (ССП) (30 мин — 3 ч) достаточно одной тренировочной сессии, а долгосрочная память (ДСП) (до 9 сут) формируется при множественных тренировках с перерывами. Важную роль играет и сама методика обучения: для дрозофилы используется класси-

ческое павловское обучение с негативным подкреплением электрошоком (Quinn et al. 1974) или метод условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) (Siegel, Hall 1979). Упоминание школы Павлова не случайно: именно он способствовал зарождению генетики поведения, назвав ее «экспериментальная генетика высшей нервной деятельности» (Savvateeva-Porova et al. 2015).

Суть УРПУ заключается в формировании у самца дрозофилы стойкой ассоциации между безусловным стимулом (БС; антиафродизиаком, выделяемый оплодотворенной самкой) и условным стимулом (УС; афродизиаком, выделяемый как оплодотворенной, так и наивной самками). Формирование в ЦНС самца ассоциации УС — БС путем его тренировок с оплодотворенной самкой приводит к снижению его индекса ухаживания (ИУ); на основе ИУ наивного и обученного самцов рассчитывается индекс обучения (ИО). Для выработки ССП методом УРПУ достаточно одной 30-минутной тренировки. Выработка ДСП методом УРПУ требует трех 1-часовых тренировочных сессий с перерывами либо одной 5-часовой тренировки.

В формировании ССП и ДСП задействованы различные гены и белки: для ССП это гены *dunce* и *amnesiac* (Ackerman, Siegle 1986), для ДСП к их числу добавляются ген циркадной активности *period* (Sakai et al. 2004) и ген *orb2*, экспрессируемый во *fruitless*-позитивных нейронах γ -лопасти грибовидных тел (Keleman et al. 2007). При формировании ДСП методом УРПУ показано изменение экспрессии 1062 изоформ 787 генов, при этом экспрессия 520 из них (в том числе *dunce*, *orb2* и *CamKII*) увеличивается, а экспрессия 542 (в том числе других изоформ *dunce* и *orb2*) снижается (Winbush et al. 2012). В числе генов с повышенной активностью — гены белков цитоскелета, отвечающие за нейропластичность, гены cAMP-зависимых сигнальных каскадов, модификаторов структуры хроматина и поведения ухаживания; в числе генов со сниженной активностью — преимущественно гены стрессорного ответа и иммунной системы. Таким образом, подавление ухаживания представляет собой достаточно сложный механизм, вовлекающий в себя множество генов и структур мозга.

При обучении в парадигме УРПУ у самцов *CS* способность к обучению остается высокой в течение 4 недель жизни. У данной линии также остается стабильным подавление ухаживания спустя 3 ч после обучения (ССП). У молодых *си* обучение протекает лучше, чем у 12 и 21 сут мух, а наибольшее подавление ИО при формировании

ССП наблюдается на интервале 5–9 сут. У *cd* начиная с 12 сут обучение существенно ухудшается, а ССП лучше всего формируется на 5–9 сут, однако на 21 и 29 сут практически отсутствует. У *cd* начиная с 21 сут также резко снижается синаптическая плотность в районе каликсов грибовидных тел. Способность к ухаживанию наивного самца за самкой у всех линий на данном временном интервале остается высокой (Savvateeva et al. 2000). У *cd* наблюдается возраст-зависимое нарушение обучения и ССП в парадигме УРПУ, на фоне сохранения высокого уровня общей активности. Наибольшая неоднородность поведенческих изменений наблюдается на ранних сроках жизни (5–9 сут). При этом эффект воздействия на обучение и память зачастую противоположен таковым на поздних сроках, что указывает на существенное различие ранних и отсроченных проявлений мутаций КПОТ.

Заключение

Более 45 лет прошло с тех пор, как И. П. Лапин, родоначальник «кинуренинового направления» в нейробиологии, предложил считать дисрегуляцию КПОТ одной из причин развития депрессивных расстройств (Lapin 1973). Последующие исследования подтвердили вовлеченность кинуренинов в развитие ряда нейробиологических и психических нарушений у человека, а также универсальность их функций в животном мире, сложный и множественный характер их воздействия на нервную систему позвоночных и беспозвоночных (Лапин 2004).

В настоящее время кинуренины рассматривают как нейрорегуляторы с широким спектром биологических функций, а активацию КПОТ в мозге — как системный механизм ответа на стресс и воспалительные процессы в ЦНС.

В заключение следует подчеркнуть ряд ключевых характеристик КПОТ как важного источника нейромодуляторов в организме животных и человека:

1. Множественный и зачастую неспецифичный характер воздействия, прежде всего на системы клеточной рецепции и окислительно-восстановительные процессы.

2. Универсальность: данный путь имеется как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных, однако у последних наблюдается ряд существенных отличий, в частности отсутствие у насекомых QUIN и перенаправление ЗНОК с пути синтеза NAD⁺ на путь синтеза оммохромов.

3. Функциональная важность: показано участие КПОТ в регуляции высших функций ЦНС, таких как память и формирование условных рефлексов, а также модуляции нейродегенеративных процессов и старения.

4. Участие в ответах на стресс: преимущественно у млекопитающих, но показано и для дрозофилы (иммобилизационный стресс, тепловой шок).

Вышеуказанное обуславливает перспективность использования мутантов КПОТ дрозофилы для раскрытия механизмов воздействия кинуренинов на физиологические и поведенческие процессы, что существенно для разработки новых подходов к терапии заболеваний нервной системы и когнитивных дисфункций у человека.

References

- Aarsland, T. I., Landaas, E. T., Hegvik, T. A. et al. (2015) Serum concentrations of kynurenines in adult patients with attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD): A case-control study. *Behavioral and Brain Functions*, vol. 11, article 36. DOI: 10.1186/s12993-015-0080-x (In English)
- Ackerman, S. L., Siegle, R. W. (1986) Chemically reinforced conditioned courtship in *Drosophila*: responses of wild-type and *dunce*, *amnesiac* and *don giovanni* mutants. *Journal of Neurogenetics*, vol. 3, no. 2, pp. 111–123. PMID: 3083073. (In English)
- Badawy, A. A. (2017) Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: Regulatory and functional aspects. *International Journal of Tryptophan Research*, vol. 10, pp. 1–20. DOI: 10.1177/1178646917691938 (In English)
- Bailey, C. H., Bartsch, D., Kandel, E. R. (1996) Toward a molecular definition of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no. 24, pp. 13445–13452. PMID: 8942955. DOI: 10.1073/pnas.93.24.13445 (In English)
- Bryleva, E. Y., Brundin, L. (2016) Kynurenine pathway metabolites and suicidality. *Neuropharmacology*, vol. 112, pt. B, pp. 324–330. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.01.034 (In English)
- Campbell, B. M., Charych, E., Lee, A. W., Möller, T. (2014) Kynurenines in CNS disease: Regulation by inflammatory cytokines. *Frontiers in Neuroscience*, vol. 8, no. 12. DOI: 10.3389/fnins.2014.00012 (In English)
- Ceresoli-Borroni, G., Guidetti, P., Amori, L. et al. (2007) Perinatal kynurenine 3-hydroxylase inhibition in rodents: Pathophysiological implications. *Journal of Neuroscience Research*, vol. 85, no. 4, pp. 845–854. PMID: 17279543. DOI: 10.1002/jnr.21183 (In English)

- Christen, S., Peterhans, E., Stocker, R. (1990) Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: Possible implication for inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 87, no. 7, pp. 2506–2510. PMID: 2320571. (In English)
- Colín-González, A. L., Maya-López, M., Pedraza-Chaverri, J. et al. (2014) The Janus faces of 3-hydroxykynurenine: Dual redox modulatory activity and lack of neurotoxicity in the rat striatum. *Brain Research*, vol. 1589, pp. 1–14. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.09.034 (In English)
- Danysz, W., Fadda, E., Wroblewski, J. T. et al. (1989) Kynurenate and 2-amino-5-phosphonovalerate interact with multiple binding sites of the N-methyl-D-aspartate-sensitive glutamate receptor domain. *Neuroscience Letters*, vol. 96, no. 3, pp. 340–344. (In English)
- Davis, R. L., Kiger, J. A. (1981) *dunce* mutants of *Drosophila melanogaster*: Mutants defective in the cyclic AMP phosphodiesterase enzyme system. *Journal of Cell Biology*, vol. 90, no. 1, pp. 101–107. PMID: 6265472. DOI: 10.1083/jcb.90.1.101 (In English)
- el-Defrawy, S. R., Boegman, R. J., Jhamandas, K., Beninger, R. J. (1986) The neurotoxic actions of quinolinic acid in the central nervous system. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 64, no. 3, pp. 369–375. PMID: 2939936. DOI: 10.1139/y86-060 (In English)
- Fazio, F., Lionetto, L., Molinaro, G. et al. (2012) Cinnabarinic acid, an endogenous metabolite of the kynurenine pathway, activates type 4 metabotropic glutamate receptors. *Molecular Pharmacology*, vol. 81, no. 5, pp. 643–656. PMID: 22311707. DOI: 10.1124/mol.111.074765 (In English)
- Ferré, J. (1983) Accumulation of kynurenic acid in the “cinnabar” mutant of *Drosophila melanogaster* as revealed by thin-layer chromatography. *Insect Biochemistry*, vol. 13, no. 3, pp. 289–294. DOI: 10.1016/0020-1790(83)90051-3 (In English)
- Figon, F., Casas, J. (2019) Ommochromes in invertebrates: Biochemistry and cell biology. *Biological Reviews*, vol. 94, pp. 156–183. DOI: 10.1111/brv.12441 (In English)
- Flieger, J., Święch-Zubilewicz, A., Śniegocki, T. et al. (2018) Determination of tryptophan and its major metabolites in fluid from the anterior chamber of the eye in diabetic patients with cataract by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS). *Molecules*, vol. 23, no. 11, article E3012. DOI: 10.3390/molecules23113012 (In English)
- Foster, A. C., Vezzani, A., French, E. D., Schwarcz, R. (1984) Kynurenic acid blocks neurotoxicity and seizures induced in rats by the related brain metabolite quinolinic acid. *Neuroscience Letters*, vol. 48, no. 3, pp. 273–278. PMID: 6237279. DOI: 10.1016/0304-3940(84)90050-8 (In English)
- Fuertig, R., Ceci, A., Camus, S. M. et al. (2016) LC–MS/MS-based quantification of kynurenine metabolites, tryptophan, monoamines and neopterin in plasma, cerebrospinal fluid and brain. *Bioanalysis*, vol. 8, no. 18, pp. 1903–1917. PMID: 27524289. DOI: 10.4155/bio-2016-0111 (In English)
- Giorgini, E., Guidetti, P., Nguyen, Q. et al. (2005) A genomic screen in yeast implicates kynurenine 3-monooxygenase as a therapeutic target for Huntington disease. *Nature Genetics*, vol. 37, no. 5, pp. 526–531. PMID: 15806102. DOI: 10.1038/ng1542 (In English)
- Green, E. W., Campesan, S., Breda, C. et al. (2012) *Drosophila* eye color mutants as therapeutic tools for Huntington disease. *Fly (Austin)*, vol. 6, no. 2, pp. 117–120. PMID: 22634544. DOI: 10.4161/fly.19999 (In English)
- Guidetti, P., Luthi-Carter, R. E., Augood, S. J., Schwarcz, R. (2004) Neostriatal and cortical quinolinic levels are increased in early grade Huntington's disease. *Neurobiology of Disease*, vol. 17, no. 3, pp. 455–461. PMID: 15571981. DOI: 10.1016/j.nbd.2004.07.006 (In English)
- Hilmas, C., Pereira, E. F., Alkondon, M. et al. (2001) The brain metabolite kynurenic acid inhibits $\alpha 7$ nicotinic receptor activity and increases non- $\alpha 7$ nicotinic receptor expression: Physiopathological implications. *Journal of Neuroscience*, vol. 21, no. 19, pp. 7463–7473. PMID: 11567036. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.21-19-07463.2001 (In English)
- Howells, A. J., Summers, K. M., Ryall, R. L. (1977) Developmental patterns of 3-hydroxykynurenine accumulation in white and various other color mutants of *Drosophila melanogaster*. *Biochemical Genetics*, vol. 15, no. 11–12, pp. 1049–1059. PMID: 414739. DOI: 10.1007/bf00484496 (In English)
- Iwahashi, H., Ishii, T., Sugata, R., Kido, R. (1988) Superoxide dismutase enhances the formation of hydroxyl radicals in the reaction of 3-hydroxyanthranilic acid with molecular oxygen. *Biochemical Journal*, vol. 251, no. 3, pp. 893–899. DOI: 10.1042/bj2510893 (In English)
- Kamyshev, N. G. (1980) Lifetime and its relationship to motor activity in *Drosophila* mutants of the tryptophan-xanthommatin metabolic pathway. *Doklady Akademii nauk SSSR*, vol. 253, no. 6, pp. 355–357. (In English)
- Keleman, K., Krüttner, S., Alenius, M., Dickson, B. J. (2007) Function of the *Drosophila* CPEB protein Orb2 in long-term courtship memory. *Nature Neuroscience*, vol. 10, no. 12, pp. 1587–1593. PMID: 17965711. DOI: 10.1038/nn1996 (In English)
- Kessler, M., Terramani, T., Lynch, G., Baudry, M. (1989) A glycine site associated with N-methyl-D-aspartic acid receptors: Characterization and identification of a new class of antagonists. *Journal of Neurochemistry*, vol. 52, no. 4, pp. 1319–1328. PMID: 2538568. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb01881.x (In English)
- Lapin, I. P. (1973) Kynurenines as probable participants of depression. *Pharmakopsychiatrie — Neuro-Psychopharmacologie*, vol. 6, no. 6, pp. 273–279. PMID: 4604664. DOI: 10.1055/s-0028-1094391 (In English)
- Lapin, I. P. (2004) *Stress. Trevogi. Alkogolizm. Depressii [Stress. Alarms. Alcoholism. Depression]*. Saint Petersburg: DEAN Publ., 224 p. (In Russian)

- Linzen, B. (1974) The tryptophan to ommochrome pathway in insects. *Advances in Insect Physiology*, vol. 10, pp. 117–246. (In English)
- Lopatina, N. G., Chesnokova, E. G., Smirnov, V. B. et al. (2004) Kinureninovi put' obmena triptofana i ego znachenie v neyrofiziologii nasekomykh [Kynurenine pathway of tryptophan metabolism and its significance in neurophysiology of insects]. *Entomologicheskoe obozrenie — Entomological Review*, vol. 83, no. 1, pp. 3–22. (In Russian)
- Lopatina, N. G., Zachepilo, T. G., Chesnokova, E. G., Savvateeva-Popova, E. V. (2011) Behavioral and molecular consequences of deficiency of endogenous kynurenines in honeybees (*Apis mellifera* L.). *Neuroscience and Behavioral Physiology*, vol. 41, no. 6, pp. 626–631. DOI: 10.1007/s11055-011-9465-y (In English)
- Mangge, H., Becker, K., Fuchs, D., Gostner, J. M. (2014) Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World Journal of Cardiology*, vol. 6, no. 6, pp. 462–477. PMID: 24976919. DOI: 10.4330/wjc.v6.i6.462 (In English)
- Miller, A. H., Haroon, E., Raison, C. L., Felger, J. C. (2013) Cytokine targets in the brain: Impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety*, vol. 30, no. 4, pp. 297–306. PMID: 23468190. DOI: 10.1002/da.22084 (In English)
- Moroni, F., Russi, P., Lombardi, G. et al. (1988) Presence of kynurenic acid in the mammalian brain. *Journal of Neurochemistry*, vol. 51, no. 1, pp. 177–180. PMID: 3379401. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1988.tb04852.x (In English)
- Nikitina, E. A., Chernikova, D. A., Vasilieva, O. V. et al. (2018) Effekt vozdejstviya antioksidantov na formirovanie srednesrochnoj pamyati u mutanta *cardinal Drosophila melanogaster* [Effect of antioxidants on medium-term memory formation in *Drosophila melanogaster cardinal* mutant]. *Biotehnologiya — Biotechnology*, vol. 34, no. 3, pp. 67–77. (In Russian)
- Okuda, S., Nishiyama, N., Saito, H., Katsuki, H. (1996) Hydrogen peroxide-mediated neuronal cell death induced by an endogenous neurotoxin, 3-hydroxykynurenine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 93, no. 22, pp. 12553–12558. DOI: 10.1073/pnas.93.22.12553 (In English)
- Okuda, S., Nishiyama, N., Saito, H., Katsuki, H. (1998) 3-hydroxykynurenine, an endogenous oxidative stress generator, causes neuronal cell death with apoptotic features and region selectivity. *Journal of Neurochemistry*, vol. 70, no. 1, pp. 299–307. PMID: 9422375. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1998.70010299.x (In English)
- Oxenkrug, G. F. (2015) Increased plasma levels of xanthurenic and kynurenic acids in type 2 diabetes. *Molecular Neurobiology*, vol. 52, no. 2, pp. 805–810. PMID: 26055228. DOI: 10.1007/s12035-015-9232-0 (In English)
- Oxenkrug, G., van der Hart, M., Summergrad, P. (2015) Elevated anthranilic acid plasma concentrations in type 1 but not type 2 diabetes mellitus. *Integrative Molecular Medicine*, vol. 2, no. 5, pp. 365–368. PMID: 26523229. DOI: 10.15761/IMM.1000169 (In English)
- Parrott, J. M., O'Connor, J. C. (2015) Kynurenine 3-monooxygenase: An influential mediator of neuropathology. *Frontiers in Psychiatry*, vol. 6, article 116. PMID: 26347662. DOI: 10.3389/fpsy.2015.00116 (In English)
- Pearson, S. J., Meldrum, A., Reynolds, G. P. (1995) An investigation of the activities of 3-hydroxykynureninase and kynurenine aminotransferase in the brain in Huntington's disease. *Journal of Neural Transmission: General Section*, vol. 102, no. 1, pp. 67–73. DOI: 10.1007/BF01276566 (In English)
- Quinn, W. G., Harris, W. A., Benzer, S. (1974) Conditioned behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 71, no. 3, pp. 708–712. PMID: 4207071. DOI: 10.1073/pnas.71.3.708 (In English)
- Raison, C. L., Dantzer, R., Kelley, K. W. et al. (2010) CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- α : Relationship to CNS immune responses and depression. *Molecular Psychiatry*, vol. 15, no. 4, pp. 393–403. PMID: 19918244. DOI: 10.1038/mp.2009.116 (In English)
- Ryall, R. L., Howells, A. J. (1974) Ommochrome biosynthetic pathway of *Drosophila melanogaster*: Variations in levels of enzyme activities and intermediates during adult development. *Insect Biochemistry*, vol. 4, no. 1, pp. 47–61. DOI: 10.1016/0020-1790(74)90041-9 (In English)
- Sakai, T., Tamura, T., Kitamoto, T., Kidokoro, Y. (2004) A clock gene, period, plays a key role in long-term memory formation in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 101, no. 45, pp. 16058–16063. PMID: 15522971. DOI: 10.1073/pnas.0401472101 (In English)
- Savvateeva, E. (1991) Kynurenines in the regulation of behavior in insects. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 294, pp. 319–328. DOI: 10.1007/978-1-4684-5952-4_29 (In English)
- Savvateeva, E., Popov, A., Kamyshev, N. et al. (2000) Age-dependent memory loss, synaptic pathology and altered brain plasticity in the *Drosophila* mutant *cardinal* accumulating 3-hydroxykynurenine. *Journal of Neural Transmission*, vol. 107, no. 5, pp. 581–601. PMID: 11072753. DOI: 10.1007/s007020070080 (In English)
- Savvateeva-Popova, E. V., Popov, A. V., Heinemann, T., Riederer, P. (2003) *Drosophila* mutants of the kynurenine pathway as a model for ageing studies. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 527, pp. 713–722. DOI: 10.1007/978-1-4615-0135-0_84 (In English)
- Savvateeva-Popova, E. V., Nikitina, E. A., Medvedeva, A. V. (2015) Neurogenetics and neuroepigenetics. *Russian Journal of Genetics*, vol. 51, no. 5, pp. 518–528. DOI: 10.1134/S1022795415050075 (In English)
- Schwarcz, R., Bruno, J. P., Muchowski, P. J., Wu, H. Q. (2012) Kynurenines in the mammalian brain: When physiology meets pathology. *Nature Review Neuroscience*, vol. 13, no. 7, pp. 465–477. PMID: 22678511. DOI: 10.1038/nrn3257 (In English)
- Siegel, R. W., Hall, J. C. (1979) Conditioned responses in courtship behavior of normal and mutant *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 76, no. 7, pp. 3430–3434. PMID: 16592682. DOI: 10.1073/pnas.76.7.3430 (In English)

- Stone, T. W. (1991) Kynurenine and glycine enhance neuronal sensitivity to N-methyl-D-aspartate. *Life Science*, vol. 48, no. 8, pp. 765–772. PMID: 1994184. DOI: 10.1016/0024-3205(91)90091-o (In English)
- Summers, K. M., Howells, A. J., Pyliotis, N. A. (1982) Biology of eye pigmentation in insects. *Advances in Insect Physiology*, vol. 16, pp. 119–166. DOI: 10.1016/S0065-2806(08)60153-8 (In English)
- Turski, W. A., Nakamura, M., Todd, W. P. et al. (1988) Identification and quantification of kynurenic acid in human brain tissue. *Brain Research*, vol. 454, no. 1–2, pp. 164–169. PMID: 3409000. DOI: 10.1016/0006-8993(88)90815-3 (In English)
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J. et al. (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 39, no. 1, pp. 44–84. PMID: 16978905. DOI: 10.1016/j.biocel.2006.07.001 (In English)
- Wang, J., Simonavicius, N., Wu, X. et al. (2006) Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, no. 31, pp. 22021–22028. PMID: 16754668. DOI: 10.1074/jbc.M603503200 (In English)
- Widner, B., Leblhuber, F., Walli, J. et al. (2000) Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, vol. 107, no. 3, pp. 343–353. PMID: 10821443. DOI: 10.1007/s007020050029 (In English)
- Widner, B., Leblhuber, F., Fuchs, D. (2002) Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, vol. 109, no. 2, pp. 181–189. PMID: 12075858. DOI: 10.1007/s007020200014 (In English)
- Wiley, K., Forrest, H. S. (1981) Terminal synthesis of xanthommatin in *Drosophila melanogaster*. IV. Enzymatic and nonenzymatic catalysis. *Biochemical Genetics*, vol. 19, no. 11–12, pp. 1211–1221. PMID: 6802132. DOI: 10.1007/bf00484574 (In English)
- Winbush, A., Reed, D., Chang, P. L. et al. (2012) Identification of gene expression changes associated with long-term memory of courtship rejection in *Drosophila* males. *G3 (Bethesda)*, vol. 2, no. 11, pp. 1437–1445. PMID: 23173095. DOI: 10.1534/g3.112.004119 (In English)
- Wonodi, I., Schwarcz, R. (2010) Cortical kynurenine pathway metabolism: A novel target for cognitive enhancement in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, vol. 36, no. 2, pp. 211–218. PMID: 20147364. DOI: 10.1093/schbul/sbq002 (In English)
- Zakharov, G. A., Zhuravlev, A. V., Payalina, T. L. et al. (2012) The effect of mutations of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism on locomotor behavior and gene expression in glutamatergic and cholinergic systems of *D. melanogaster*. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, vol. 2, no. 2, pp. 197–204. DOI: 10.1134/S2079059712020141 (In English)
- Zhuravlev, A. V., Zakharov, G. A., Shchegolev, B. F., Savvateeva-Popova, E. V. (2012) Stacking interaction and its role in kynurenic acid binding to glutamate ionotropic receptors. *Journal of Molecular Modelling*, vol. 18, no. 5, pp. 1755–1766. PMID: 21833825. DOI: 10.1007/s00894-011-1206-1 (In English)
- Zhuravlev, A. V., Nikitina, E. A., Savvateeva-Popova, E. V. (2015) Obuchenie i pamyat' u drozofily: fiziologo-geneticheskie osnovy [Education and memory in *Drosophila*: Physiological and genetic bases]. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*, vol. 46, no. 1, pp. 76–92. (In Russian)
- Zhuravlev, A. V., Zakharov, G. A., Shchegolev, B. F., Savvateeva-Popova, E. V. (2016) Antioxidant properties of kynurenines: Density functional theory calculations. *PLOS Computational Biology*, vol. 12, no. 11, article e1005213. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005213 (In English)
- Zhuravlev, A. V., Vetrovoy, O. V., Savvateeva-Popova, E. V. (2018) Enzymatic and non-enzymatic pathways of kynurenines' dimerization: The molecular factors for oxidative stress development. *PLOS Computational Biology*, vol. 14, no. 12, article e1006672. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006672 (In English)

Моделирование синдрома системного воспалительного ответа на анестезированных крысах

В. Г. Александров^{✉1,2}, Е. А. Губаревич^{1,2}, Г. А. Данилова¹, Т. С. Туманова^{1,2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена,
191186, Россия, Санкт-Петербург, наб. р. Мойки, д. 48

Сведения об авторах

Александров Вячеслав Георгиевич,
SPIN-код: 6752-2718, Scopus
AuthorID: 7202754123, ORCID:
0000-0002-5079-633X, e-mail:
aleksandrovv@infran.ru

Губаревич Елена Алексеевна,
ORCID: 0000-0003-2305-2279,
e-mail: elenagubarevich@mail.ru

Данилова Галина Анатольевна,
SPIN-код: 6784-1326, Scopus
AuthorID: 7003784398, e-mail:
danilovaga@infran.ru

Туманова Татьяна Сергеевна,
SPIN-код: 9054-0304, Scopus
AuthorID: 57109162900, ORCID:
0000-0001-6393-6699, e-mail:
TumanovaTS@infran.ru

Для цитирования:

Александров, В. Г., Губаревич, Е. А.,
Данилова, Г. А., Туманова, Т. С.
(2020) Моделирование синдрома
системного воспалительного
ответа на анестезированных
крысах. *Интегративная
физиология*, т. 1, № 1, с. 51–60. DOI:
10.33910/****-****-2020-1-1-51-60

Получена 11 июля 2019; прошла
рецензирование 2 августа 2019;
принята 27 августа 2019.

Права: © Авторы (2020).

Опубликовано Российским
государственным педагогическим
университетом им. А. И. Герцена.
Открытый доступ на условиях
лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. Системное воспаление вызывает нарушение функций дыхания и кровообращения. Для экспериментального исследования механизмов этих нарушений необходимо моделировать синдром системного воспалительного ответа (ССВО) в условиях острого эксперимента на животных, анестезированных уретаном. Цель настоящей работы состояла в проверке гипотезы, согласно которой в указанных экспериментальных условиях можно воспроизвести один из симптомов ССВО, а именно — изменение количества и состава лейкоцитов крови. Работа выполнена на лабораторных крысах (самцы Вистар, вес 250–300 г), анестезированных уретаном (1600 мг/кг, в/б) и разбитых на три группы. Животные первой группы ($n = 5$) были подвергнуты операции, имитирующей некоторые оперативные подходы, используемые при изучении функций дыхания и кровообращения. Второй группе животных ($n = 5$) вводили внутривенно 500 мкг бактериального липополисахарида (ЛПС), растворенного в 1 мл физиологического раствора. В третьей группе крыс ($n = 5$) ложная операция сочеталась с введением ЛПС. Измерение количества лейкоцитов в образцах крови, взятых из хвостовой вены, показало, что введение ЛПС вызывало у животных второй и третьей групп снижение общего количества лейкоцитов, главным образом за счет нейтрофилов. Полученные результаты доказывают, что в условиях острого эксперимента на крысах, анестезированных уретаном, внутривенным введением ЛПС можно вызвать лейкопению, т. е. воспроизвести один из важнейших (наряду с тахикардией, тахипноэ и изменением температуры тела) симптомов ССВО.

Ключевые слова: синдром системного воспалительного ответа, крыса, бактериальный липополисахарид, лейкоциты, нейтрофилы.

Simulation of the systemic inflammatory response syndrome in anesthetized rats

V. G. Aleksandrov^{✉1,2}, E. A. Gubarevich^{1,2}, G. A. Danilova¹, T. S. Tumanova^{1,2}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 19034, Russia

² Herzen State Pedagogical University of Russia, 48 Moika River Emb., Saint Petersburg 191186, Russia

Authors

Vyacheslav G. Aleksandrov,
SPIN: 6752-2718, Scopus AuthorID:
7202754123, ORCID: 0000-0002-
5079-633X, e-mail:
aleksandrovv@infran.ru

Elena A. Gubarevich,
ORCID: 0000-0003-2305-2279,
e-mail: elenagubarevich@mail.ru

Galina A. Danilova, SPIN: 6784-1326,
Scopus AuthorID: 7003784398,
e-mail: danilovaga@infran.ru

Tatyana S. Tumanova,
SPIN: 9054-0304, Scopus AuthorID:
57109162900, ORCID: 0000-0001-
6393-6699, e-mail:
TumanovaTS@infran.ru

For citation: Aleksandrov, V. G.,
Gubarevich, E. A., Danilova, G. A.,
Tumanova, T. S. (2020) Simulation
of the systemic inflammatory
response syndrome in anesthetized
rats. *Integrative Physiology*, vol. 1,
no. 1, pp. 51–60. DOI: 10.33910/****-
****-2020-1-1-51-60

Received 11 July 2019; reviewed
2 August 2019; accepted 27 August
2019.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State Pedagogical
University of Russia. Open access
under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Systemic inflammation causes respiratory and circulatory dysfunctions. To study the mechanisms of these disorders, it is necessary to simulate the syndrome of systemic inflammatory response (SIRS) in an acute experiment on animals anesthetized with urethane. The aim of the present study was to test the hypothesis that one of the SIRS symptoms can be reproduced in these experimental conditions, namely — the change in the number and composition of blood leukocytes. The work was performed on laboratory rats (male Wistar, 250–300 grams) anesthetized with urethane (1600 mg/kg, i. p.) and divided into three groups. Animals of the first group (n = 5) underwent surgery simulating some surgical approaches used in the study of respiratory and circulatory functions. The second group (n = 5) was administered intravenously with 500 µg of bacterial lipopolysaccharide (LPS) dissolved in 1 ml of saline. In the third group (n = 5) the sham operation was combined with the introduction of LPS. Measurement of the number of white blood cells in blood samples taken from the caudal vein showed that the introduction of LPS in the second and third groups caused a decrease in the total number of white blood cells, mainly due to neutrophils. The obtained results prove that in an acute experiment in rats anesthetized with urethane, intravenous LPS can cause leucopenia, that is, reproduce one of the most important (along with tachycardia, tachypnea, and changes in body temperature) symptoms of SIRS.

Keywords: systemic inflammatory response syndrome, rat, bacterial lipopolysaccharide, leukocytes, neutrophils.

Введение

Известно, что в ответ на действие патогенных факторов инфекционной и неинфекционной природы нередко развивается тяжелый патологический процесс, который определяется термином «синдром системного воспалительного ответа» (ССВО). Этот термин (англ. systemic inflammatory response syndrome (SIRS)) был принят в 1992 г. на конференции Американской коллегии торакальных хирургов и Общества специалистов интенсивной терапии (Bone et al. 1992). ССВО был включен в Международную статистическую классификацию болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10), в качестве самостоятельной рубрики (R65). Этот синдром характеризуется следующими основными симптомами: температура тела фебриль-

ная ($\geq 38^\circ\text{C}$) или пониженная ($\leq 36^\circ\text{C}$); частота сердечных сокращений $\geq 90/\text{мин}$ (тахикардия); частота дыхания $\geq 20/\text{мин}$ (тахипноэ); лейкоцитоз ($\geq 12000/\mu\text{л}$) или лейкопения ($\leq 4000/\mu\text{л}$), или более 10 % незрелых форм лейкоцитов. Диагноз ССВО ставится при наличии как минимум двух из перечисленных симптомов (Bone et al. 1992; Zimmerman, Ringer 1992; Bone 1996; Черешнев, Гусев 2002). ССВО сопровождается нарушением функций систем дыхания и кровообращения, увеличивает риск развития полиорганной недостаточности. Ключевую роль в развитии ССВО играет бактериальный липополисахарид (ЛПС) — компонент стенки грамотрицательных бактерий, который постоянно присутствует в системном кровотоке и эффективно нейтрализуется анти-эндотоксическими системами. Обычным источником ЛПС в организме являются бактерии,

входящие в состав микрофлоры кишечника (Межирова и др. 2011). При развитии системного воспаления происходит нарушение барьерной функции стенки кишечника, а также массовое разрушение бактерий, что приводит к повышению системного уровня ЛПС. В свою очередь, ЛПС вызывает усиленную продукцию про- и противовоспалительных цитокинов лейкоцитами и другими клетками, поэтому ССВО сопровождается гиперцитокинемией (Симбирцев, Тотолян 2015; Garami et al. 2018; Herzum, Renz 2008). Известно, что провоспалительные цитокины могут оказывать влияние на структуры центральной нервной системы, в том числе на структуры, участвующие в контроле автономных функций (Black 1994; Benveniste 1998; Probert 2015; Müller 2017, Kim et al. 2019). Поэтому можно предполагать, что повышенный уровень провоспалительных цитокинов является фактором, который оказывает негативное влияние на нервные механизмы регуляции функций дыхания и кровообращения при ССВО. Исследование физиологических механизмов этих процессов требует разработки методов моделирования ССВО на экспериментальных животных, в том числе методов, пригодных к использованию в острых экспериментах. Одним из методических приемов, при помощи которого удастся моделировать ССВО, является внутривенное или внутрибрюшинное введение препарата ЛПС. Как правило, эта модель воспроизводилась на подвижных животных (Wong, Rodriguez 2008; Stahl, Löffler, Haier et al. 2013; Steven, Dib, Roohani et al. 2017). При использовании общих анестетиков возникает вопрос об их возможном влиянии на эффекты ЛПС. Имеются работы, в которых ЛПС вводили животным, анестезированным севофлураном (Beck-Schimmer, Baumann, Restin et al. 2017), пропофолом (Schläpfer, Piegeler, Dull et al. 2015), пентобарбиталом и смесью уретана и хлоралозы (Kazerani, Furman 2006), а также чистым уретаном (Cao et al. 1997). В этих работах по большей части исследовался возможный протективный эффект анестетиков по отношению к ЛПС, и было установлено, что они действительно способны ослаблять или, наоборот, усиливать влияние введения ЛПС на многие органы и ткани. Полученные результаты указывают на то, что при моделировании эффектов ССВО в острых экспериментах действительно следует учитывать эффекты анестетиков. Вместе с тем в указанных работах не ставилась задача моделирования ССВО, в частности не оценивались изменения в количестве и составе лейкоцитов крови под влиянием ЛПС. Считается,

что при изучении автономных функций наиболее подходящим анестетиком является уретан. Действуя в широком диапазоне доз, этот анестетик не вызывает снижения артериального давления, не угнетает дыхание, обеспечивает стабильную двигательную активность желудочно-кишечного тракта. Установлено, что уретан несколько ослабляет, но не устраняет пирогенный эффект ЛПС (Cao et al. 1997). Имеются экспериментальные данные, которые свидетельствуют, что введение ЛПС животным, находящимся под уретановой анестезией, позволяет воспроизвести один из основных симптомов ССВО, а именно повышение частоты сердечных сокращений (Туманова, Александров 2016). Цель настоящей работы состояла в экспериментальной проверке гипотезы, согласно которой внутривенное введение ЛПС крысам, находящимся под уретановой анестезией, позволит воспроизвести другой симптом ССВО, а именно — изменение количества и состава лейкоцитов крови. Предполагалось, что полученные результаты позволят сделать обоснованное заключение о возможности использования ЛПС для моделирования ССВО в условиях общей уретановой анестезии.

Объект и методы исследования

Объект исследования

Для проведения экспериментов было использовано 15 крыс линии Wistar (самцы, вес 250–300 г) из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН для исследования интегративных механизмов деятельности нервной и висцеральных систем». Содержание и использование животных осуществлялось в соответствии с ГОСТом 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», учитывающим основные положения Приложения А к Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS № 123). Эвтаназия животных по окончании эксперимента производилась путем передозировки анестетика.

Методы исследования

Хирургическая подготовка животных

Эксперименты проводились под общей анестезией (уретан в/б, 1600 мг/кг) и предусматривали хирургическую подготовку, в ходе которой производилась катетеризация хвостовой вены для отбора образцов крови и введения ЛПС.

При проведении экспериментов, протокол которых предусматривал выполнение «ложных» операций, дополнительно производился продольный разрез на вентральной поверхности шеи, лапаротомия по средней линии и разрез на внутренней поверхности бедра, все разрезы зашивались. Таким путем воспроизводились оперативные подходы, обычно используемые при экспериментальном исследовании функций висцеральных систем: трахеостомия, обеспечение доступа к органам брюшной полости и диафрагме, а также к крупным сосудам.

Гематологический анализ

Кровь в количестве 50 мкл отбирали в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл, содержавшие 250 мкл буфера с ЭДТА. Пробу крови тщательно перемешивали и анализировали в течение 2 ч после забора. Для анализа лейкоцитарной формулы крови использовали автоматический гематологический анализатор Abacus Junior Vet, фирмы Diatron, полностью автоматизированный для подсчета клеток крови и эритроцитарных индексов. Учитывали количество лейкоцитов (WBC), количество лимфоцитов (LYM), нейтрофилов (GRA) и моноцитов/эозинофилов и их предшественников (MID).

Экспериментальные протоколы

Протокол экспериментов предусматривал отбор 10 проб крови, причем первая проба отбиралась непосредственно после установки венозного катетера, а остальные с интервалом в 30 мин. Весь эксперимент, таким образом, длился 4,5 ч. По этой схеме было проведено три серии экспериментов, каждая из которых имела свои особенности.

В первой серии ($n = 5$) после взятия 1-й пробы проводилась «ложная» операция, а между 3-й и 4-й пробам вливался 1 мл физраствора. Затем отбирались остальные пробы.

Во второй серии ($n = 5$) «ложная» операция не проводилась, а между 3-й и 4-й пробам вливалось внутривенно 500 мкг ЛПС (Sigma-Aldrich), растворенного в 1 мл физиологического раствора. После этого также отбирались остальные пробы.

В третьей серии экспериментов ($n = 5$) между 1-й и 2-й пробам производилась «ложная» операция, а между 3-й и 4-й пробам вливался ЛПС в той же дозировке.

Эффективность указанной дозы ЛПС была установлена в экспериментах с регистрацией активности систем дыхания и кровообращения, в которых она вызывала рост ЧСС и усиление

вентиляции легких (Туманова, Александров, 2019).

Статистическая обработка экспериментальных данных

Результаты экспериментов заносились в таблицы MSExcel и обрабатывались статистически с помощью опции «описательная статистика». Полученные средние величины и их ошибки наносились на графики. Для оценки достоверности полученных различий использовался однофакторный дисперсионный анализ, а также непараметрический критерий Манна — Уитни. Различия считались достоверными при $P < 0,01$.

Результаты

Эффекты оперативного вмешательства

Общее количество всех лейкоцитов (WBS) до операции составляло в среднем $20,74 \pm 5 \times 10^3$ кл/мкл. После операции наблюдалось постепенное увеличение этого показателя до $37,84 \pm 4,43 \times 10^3$ кл/мкл на 120-й мин, затем некоторое снижение и стабилизация на уровне около 30×10^3 кл/мкл до конца эксперимента (рис. 1).

Количество нейтрофилов (NEUT) до операции составляло $5,6 \pm 1,27 \times 10^3$ кл/мкл. После операции NEUT также постепенно росло и через 2 ч стабилизировалось на уровне $20 - 21 \times 10^6$ кл/мкл, причем этот уровень был достоверно выше исходного. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что кривые, отражающие изменения общего количества лейкоцитов и количества нейтрофилов, практически параллельны. Количество лимфоцитов (LYM) до операции равнялось $14,2 \pm 4,74 \times 10^3$ кл/мкл.

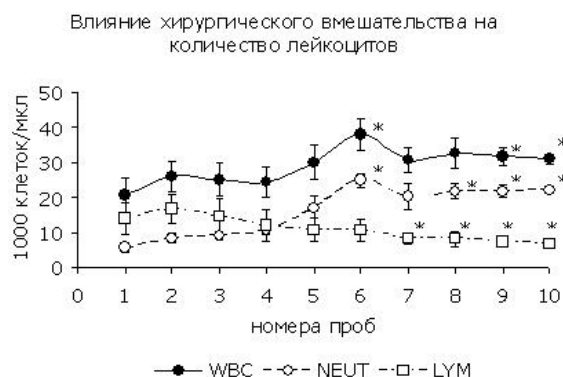


Рис. 1. Влияние хирургического вмешательства на количество лейкоцитов

Fig. 1. Effect of sham surgery on white blood cell count

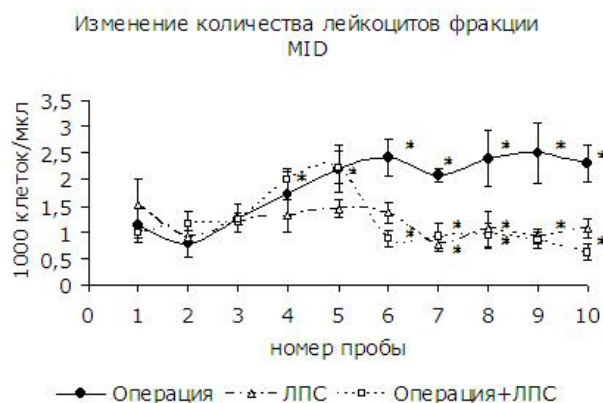


Рис. 2. Изменение количества лейкоцитов фракции MID

Fig. 2. Alteration in count of MID leukocytes

По ходу эксперимента происходило плавное снижение LYM до $6,7 \pm 1,12 \times 10^3$ кл/мкл на 240-й мин эксперимента. Показатель MID до операции равнялся $1,14 \pm 0,34 \times 10^6$ кл/мкл. В 4-й пробе он составлял уже $1,72 \pm 0,42 \times 10^3$ кл/мкл, а к концу эксперимента $2,3 \pm 0,34 \times 10^3$ кл/мкл, т. е. практически удваивался (рис. 2).

Полученные результаты показывают, что хирургическая подготовка животного к острому эксперименту в условиях уретановой анестезии вызывает лейкоцитоз. Это происходит, главным образом, вследствие подъема уровня нейтрофилов. Кроме того, происходит некоторое повышение уровня моноцитов, эозинофилов и их предшественников.

Эффекты введения ЛПС

В течение первого часа до введения ЛПС показатель WBC незначительно повышался, но этот рост был в пределах статистической погрешности. Непосредственно перед введением ЛПС показатель WBC равнялся $21,5 \pm 4,89 \times 10^3$ кл/мкл, а затем начинал снижаться. Через 90 мин после введения он составлял $12,5 \pm 3,31 \times 10^3$ кл/мкл и на этом уровне оставался до конца эксперимента (рис. 3).

Количество нейтрофилов в течение первого часа до введения ЛПС постепенно росло, но введение ЛПС прерывало этот рост. Непосредственно перед введением показатель NEUT составлял $9,3 \pm 1,93 \times 10^3$ кл/мкл, через час после введения ЛПС количество нейтрофилов снижалось до $5,5 \pm 0,88 \times 10^3$ кл/мкл. Количество лимфоцитов в первой пробе составляло $10,9 \pm 4,09 \times 10^3$ кл/мкл, а затем постепенно снижалось, составляя в конце эксперимента $3 \pm 0,79 \times 10^3$ кл/мкл. Показатель MID непосредственно перед введением составлял $1,2 \pm 0,17 \times 10^3$ кл/мкл, в течение часа после

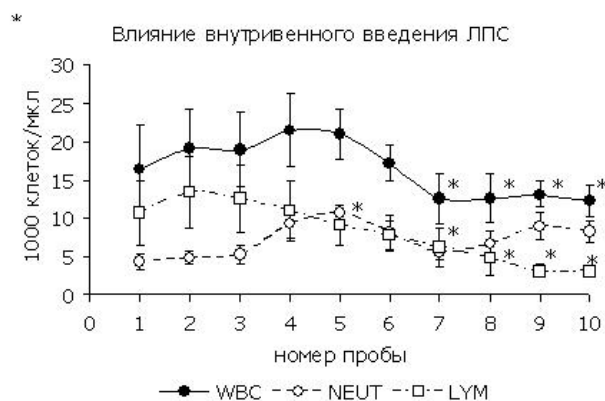


Рис. 3. Влияние внутривенного введения ЛПС

Fig. 3. Effect of intravenous LPS

введения проявлял тенденцию к росту, а затем возвращался к исходным значениям (рис. 2). Таким образом, введение ЛПС приводило к лейкопении, вследствие снижения уровня нейтрофилов, которое происходило параллельно с падением уровня лимфоцитов. Динамика процесса снижения количества лимфоцитов не отличалась от той, которая наблюдалась у ложнооперированных животных.

Эффекты сочетания хирургического вмешательства и ЛПС

В третьей серии экспериментов общее содержание лейкоцитов в первой пробе составляло $27,6 \pm 1,19 \times 10^3$ кл/мкл, из них нейтрофилов $10,5 \pm 1,97 \times 10^3$ кл/мкл, лимфоцитов $15,9 \pm 1,36 \times 10^3$ кл/мкл, остальное приходилось на клетки фракции MID. Эксперименты показали, что и в этой серии ложная операция вызывала достоверное увеличение общего числа лейкоцитов (рис. 4).

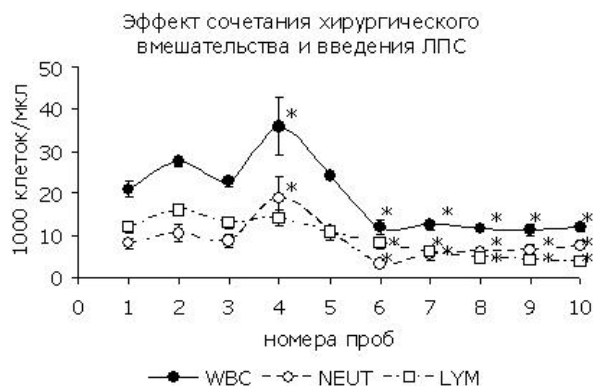


Рис. 4. Эффект сочетания хирургического вмешательства и введения ЛПС

Fig. 4. Effect of sham surgery and intravenous LPS combined

В 3-й пробе показатель WBC составлял в среднем $35,8 \pm 6,89 \times 10^3$ кл/мкл, а в 1-й и 2-й соответственно $27,6 \pm 1,19 \times 10^3$ кл/мкл и $21,9 \pm 1,35 \times 10^3$ кл/мкл, причем увеличение происходило главным образом за счет роста количества нейтрофилов. Однако уже в 4-й пробе после введения ЛПС общее количество лейкоцитов резко уменьшалось, причем главным образом за счет снижения числа нейтрофилов. Такую же динамику демонстрировал показатель MID (рис. 2). Таким образом, и в этой серии экспериментов ложная операция стимулировала развитие нейтрофильного лейкоцитоза, как и в экспериментах 1-й серии. Однако введение ЛПС прерывало этот процесс, и преобладающим эффектом становилась нейтрофильная лейкопения, так же как и во 2-й серии экспериментов. Что касается содержания лимфоцитов, то в течение всего времени эксперимента оно монотонно снижалось, подобно тому, как это имело место в экспериментах двух первых серий. Иными словами, и в этой экспериментальной серии «ложная» операция запускала нейтрофильный лейкоцитоз, а ЛПС — лейкопению.

Обсуждение полученных результатов

Резюмируя результаты проведенных экспериментов, следует сделать вывод: оперативное вмешательство вызывало стабильный лейкоцитоз, а ЛПС — лейкопению. При сочетании оперативного вмешательства и введения ЛПС оперативное вмешательство стимулирует повышение количества лейкоцитов, но введение ЛПС прерывает этот процесс и приводит к стабильной лейкопении приблизительно через 40–45 мин после введения. Таким образом, эффектом действия ЛПС в условиях острого эксперимента на крысах, анестезированных уретаном, является устойчивая лейкопения. При этом разные фракции лейкоцитов по-разному реагировали на экспериментальные воздействия. Количество нейтрофилов после «ложной» операции возрастает, а после введения ЛПС уменьшается. При сочетании операции и введения ЛПС уровень нейтрофилов сначала повышается, а потом снижается. Во всех экспериментах динамика показателя NEUT соответствует динамике WBS и, по-видимому, определяет ее. Динамика количества лимфоцитов во всех экспериментах была единообразной и сводилась в общем к постепенному снижению их числа по ходу эксперимента. Экспериментальные воздействия не оказывали достоверного влияния на этот процесс. Что касается клеток фракции MID, то динамика их численности была такой же, как динамика численности нейтрофилов.

Результаты проведенных экспериментов позволяют сделать несколько выводов. Во-первых, в условиях уретановой анестезии само оперативное вмешательство вызывает у крыс лейкоцитоз в результате повышения уровня нейтрофилов и, отчасти, лейкоцитов фракции MID. Во-вторых, ЛПС устраняет этот эффект и вызывает лейкопению вследствие уменьшения количества нейтрофилов. В-третьих, нейтрофильная лейкопения является основным эффектом ЛПС в указанных экспериментальных условиях. Таким образом, именно динамика нейтрофилов определяла динамику общего количества лейкоцитов во всех экспериментах.

Известно, что повышение уровня ЛПС в плазме и развитие лейкоцитоза, в основном за счет роста количества нейтрофилов, нередко происходит при различных травмах, в том числе и при хирургических вмешательствах (James et al. 1999, Черешнев и др. 2011). В то же время лимфоциты при подобных стрессовых воздействиях подвергаются апоптозу, а их количество уменьшается (Гельфанд и др. 2009). Таким образом, наши данные о развитии нейтрофильного лейкоцитоза у ложнооперированных крыс вполне соответствуют литературным данным. Как уже упоминалось, динамика лейкоцитов как в ту, так и в другую сторону (лейкоцитоз и лейкопения) является одним из критериев ССВО. С другой стороны, подобные эффекты вызывает и повышение системного уровня ЛПС, которое также может вызвать повышение или понижение количества нейтрофилов у интактных и ложнооперированных животных (Altenburg, Martins, Silva et al. 1997; Галкин, Демидова 2015). Разнонаправленность реакций нейтрофилов на ЛПС рассматривается как результат развития связанных между собой, но различных процессов, влияющих на поведение нейтрофилов. Одним из таких механизмов является так называемое «краевое стояние», т. е. адгезия нейтрофилов на эндотелии сосудов. Возможен и массовый выход нейтрофилов из сосудистого русла, «паралич нейтрофилов» и другие. Всего существует более десятка эндогенных факторов, действующих при повышении системного уровня ЛПС и изменяющих функции нейтрофилов, причем разные факторы преобладают на различных фазах развития ответной реакции организма на введение ЛПС (Wagner, Roth 1999). Что касается лейкоцитов фракции MID, то известно, что они являются источником провоспалительных медиаторов, выделяющихся при развитии воспалительного ответа (Rudiger, Stotz, Singer 2008). Имеются данные об их накоплении при введении ЛПС (Castro-Faria-Neto, Penido,

Larangeira et al. 1997). В литературе существуют данные, которые позволяют проанализировать вопрос о влиянии анестезии на изменения лейкоцитарной формулы, происходящее в ответ на введение ЛПС. Так, в одной из работ оценивалась связь между фактором некроза опухоли альфа (ФНО- α), лейкоцитами (WBC), кортикостероном и выживаемостью подвижных животных, инъецированных различными дозами ЛПС (0,0001–28,8 мг/кг). После введения ЛПС дозозависимая лейкопения достигала максимального уровня через 2–4 ч (Feuerstein et al. 1990). В другом исследовании, посвященном действию соматотропина на иммунную систему подвижных животных, СВР моделировалась введением 5мг/кг ЛПС. Обычным эффектом ЛПС была лейкопения, однако изменения лейкоцитарной формулы могли быть различными. Наблюдалось, в частности, снижение количества лимфоцитов (лимфопения) и увеличение количества нейтрофилов (нейтрофилия) (Roelfsema et al. 2001). Снижение числа лейкоцитов при моделировании ССВО введением ЛПС наблюдалось и при экспериментах на анестезированных животных. В одной из работ (Mathiak et al. 2000) после анестезии раствором кетамина/ксилазина и введения ЛПС (65 мг/кг) в течение часа наблюдали снижение общего числа лейкоцитов от $13,95 \times 10^3/\text{мкл}$ до $5,16 \times 10^3/\text{мкл}$. В другом исследовании (Short et al. 1999) на фоне этого же анестетика зафиксировано снижение количества нейтрофилов на 88 % в течение 30 мин после введения 1мг/кг ЛПС. Имеются данные о влиянии ЛПС на уровень лейкоцитов, полученные в условиях острых экспериментов, которые проводились под барбитуратной анестезией (Као,

Wang, Lin, Chen 2006). Введением 10 мг/кг ЛПС вызывали острое повреждение легких (ALI), патологическое состояние, которое является одной из моделей СВР. Данная модель использовалась для оценки эффекта N-ацетилцистеина на ALI, вызванное введением ЛПС. Авторы констатировали наличие ALI, в том числе и по снижению количества лейкоцитов (WBC) в течение трёх часов с $7,22 \pm 0,61 \times 10^6/\text{мл}$ до $2,21 \pm 0,14 \times 10^6/\text{мл}$. Таким образом, литературные данные свидетельствуют, что в условиях острых экспериментов, проводимых под общей анестезией, вызванной разными анестетиками, лейкопения и нейтропения (агранулоцитоз) являются обычным эффектом ЛПС. Полученные нами результаты свидетельствуют, что такой же эффект ЛПС проявляется и в острых экспериментах, выполняемых в условиях общей уретановой анестезии. Предыдущими исследованиями (Туманова, Александров 2016) установлено, что введение ЛПС крысам, анестезированным уретаном, приводит к проявлению еще одного симптома ССВО, а именно повышению частоты сердечных сокращений. Кроме того, наблюдалось усиление вентиляции. Эти данные позволяют сделать вывод: введение ЛПС в системный кровоток является методическим приемом, который действительно можно использовать для моделирования ССВО в острых экспериментах на крысах, анестезированных уретаном. Использование этого методического приема позволяет планировать и проводить эксперименты по изучению особенностей функционирования висцеральных систем и механизмов их контроля в условиях системного воспалительного ответа.

Литература

- Галкин, А. А., Демидова, В. С. (2015) Нейтрофилы и синдром системного воспалительного ответа. *Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костюченко*, т. 2, № 2, с. 25–31. DOI: 10.17650/2408-9613-2015-2-2-25-31
- Гельфанд, Б. Р., Салтанов, А. И. (ред.) (2009) *Интенсивная терапия: национальное руководство*: в 2 т. Т. 1. М.: ГЭОТАР-Медиа, 955 с.
- Межирова, Н. М., Данилова В. В., Овчаренко, С. С. (2011) Патофизиологические и диагностические аспекты синдрома системного воспалительного ответа. *Медицина неотложных состояний*, № 1–2, с. 34–40.
- Симбирцев, А. С., Тотолян, А. А. (2015) Цитокины в лабораторной диагностике. *Инфекционные болезни*, № 2, с. 82–98.
- Туманова, Т. С., Александров, В. Г. (2016) Влияние бактериального липополисахарида на рефлекторные механизмы кардиореспираторной системы анестезированной крысы. В кн.: А. И. Григорьев, Ю. В. Наточин, Р. И. Сепиашвили и др. (ред.). *Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM*. Сочи: б. и., с. 158. (Acta Naturae. Спецвыпуск: в 2 т. Т. 1.)
- Черешнев, В. А., Гусев, Е. Ю. (2002) Системное воспаление как иммунопатобиологический феномен. *Цитокины и воспаление*, т. 1, № 2, с. 17.
- Черешнев, В. А., Шилов, М. И., Черешнева М. В. и др. (2011) Экспериментальные модели в патологии. Пермь: Изд-во ПГНИУ, 267 с.

- Altenburg, S. P., Martins, M. A., Silva, A. R. et al. (1997) LPS-induced blood neutrophilia is inhibited by alpha 1-adrenoceptor antagonists: A role for catecholamines. *The Journal of Leukocyte Biology*, vol. 61, no. 6, pp. 689–694. PMID: 9201259. DOI: 10.1002/jlb.61.6.689 (In English)
- Beck-Schimmer, B., Baumann, L., Restin, T. et al. (2017) Sevoflurane attenuates systemic inflammation compared with propofol, but does not modulate neuro-inflammation: A laboratory rat study. *European Journal of Anaesthesiology*, vol. 34, no. 11, pp. 764–775. PMID: 28759530. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000668 (In English)
- Benveniste, E. N. (1998) Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine & Growth Factors Reviews*, vol. 9, no. 3–4, pp. 259–275. PMID: 9918124. DOI: 10.1016/S1359-6101(98)00015-X (In English)
- Black, P. H. (1994) Immune system-central nervous system interactions: Effect and immunomodulatory consequences of immune system mediators on the brain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 38, no. 1, pp. 7–12. PMID: 8141583. DOI: 10.1128/AAC.38.1.7 (In English)
- Bone, R. C. (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Critical Care Medicine*, vol. 24, no. 1, pp. 163–172. PMID: 8565523. DOI: 10.1097/00003246-199601000-00026 (In English)
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B. et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, vol. 101, no. 6, pp. 1644–1655. PMID: 1303622. DOI: 10.1378/chest.101.6.1644 (In English)
- Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K., Watanabe, Y. (1997) Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. *American Journal of Physiology*, vol. 272, no. 6, pt. 2, pp. R1712–R1725. PMID: 9227582. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.272.6.R1712 (In English)
- Castro-Faria-Neto, H. C., Penido, C. M., Lorangeira, A. P. et al. (1997) A role for lymphocytes and cytokines on the eosinophil migration induced by LPS. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 92, suppl. II, pp. 197–200. PMID: 9698933. DOI: 10.1590/s0074-02761997000800026 (In English)
- Feuerstein, G., Hallenbeck, J. M., Vanatta, B. et al. (1990) Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF alpha, circulating blood cells, and the survival of rats. *Circulatory Shock*, vol. 30, no. 3, pp. 265–78. PMID: 2178800. (In English)
- Garami, A., Steiner, A. A., Romanovsky, A. A. (2018) Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 157, pp. 565–597. PMID: 30459026. DOI: 10.1016/B978-0-444-64074-1.00034-3 (In English)
- Herzum, I., Renz, H. (2008) Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 6, pp. 581–587. PMID: 18336272. DOI: 10.2174/092986708783769704 (In English)
- Kao, S. J., Wang, D., Lin, H. I., Chen, H. I. (2006) N-acetylcysteine abrogates acute lung injury induced by endotoxin. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 33, no. 1–2, pp. 33–40. PMID: 16445696. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2006.04320.x (In English)
- Kazerani, H. R., Furman, B. L. (2006) Comparison of urethane/chloralose and pentobarbitone anaesthesia for examining effects of bacterial lipopolysaccharide in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, vol. 20, no. 4, pp. 379–384. PMID: 16867022. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2006.00413.x (In English)
- Kim, Y. K., Amidfar, M., Won, E. (2019) A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, vol. 91, pp. 103–112. PMID: 29932946. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.06.008 (In English)
- Mathiak, G., Grass, G., Herzmann, T. et al. (2000) Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses. *British Journal of Pharmacology*, vol. 131, no. 3, pp. 383–386. PMID: 11015286. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703629 (In English)
- Müller, N. (2017) Immunological aspects of the treatment of depression and schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, vol. 19, no. 1, pp. 55–63. PMID: 28566947. (In English)
- Probert, L. (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*, vol. 302, pp. 2–22. PMID: 26117714. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038 (In English)
- Roelfsema, V., Thomas, G. B., Lin, H. et al. (2001) The metabolic effects of endotoxin are differentially affected by the pattern of GH administration in the rat. *Journal of Endocrinology*, vol. 171, no. 1, pp. 173–181. PMID: 11572801. DOI: 10.1677/joe.0.1710173 (In English)
- Rudiger, A., Stotz, M., Singer, M. (2008) Cellular processes in sepsis. *Swiss Medical Weekly*, vol. 138, no. 43–44, pp. 629–634. PMID: 19005868. (In English)
- Schläpfer, M., Piegeler, T., Dull, R. O. et al. (2015) Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis. *Critical Care*, vol. 19, article 45. PMID: 25887642. DOI: 10.1186/s13054-015-0751-x (In English)
- Short, A., Wong, A. K., Finch, A. M. et al. (1999) Effects of a new C5a receptor antagonist on C5a- and endotoxin-induced neutropenia in the rat. *British Journal of Pharmacology*, vol. 126, no. 3, pp. 551–554. PMID: 10188960. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702338 (In English)
- Stahl, O., Löffler, B., Haier, J. et al. (2013) Mimicry of human sepsis in a rat model — prospects and limitation. *Journal of Surgical Research*, vol. 179, no. 1, pp. e167–e175. PMID: 22482762. DOI: 10.1016/j.jss.2012.01.042 (In English)

- Steven, S., Dib, M., Roohani, S. et al. (2017) Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxemia — a comparative study of mice and rats. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 10, article 2176. PMID: 29057830. DOI: 10.3390/ijms18102176 (In English)
- Wagner, J. G. Roth, R. A. (1999) Neutrophil migration during endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 66, no. 1, pp. 10–24. PMID: 10410985. DOI: 10.1002/jlb.66.1.10 (In English)
- Wong, K. A., Rodriguez, A. (2008) Plasmodium infection and endotoxemic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells. *The Journal of Immunology*, vol. 180, no. 2, pp. 716–726. PMID: 18178809. DOI: 10.4049/jimmunol.180.2.716 (In English)
- Zimmerman, J. J., Ringer, T. V. (1992) Inflammatory host responses in sepsis. *Progress in Pediatric Critical Care*, vol. 8, no. 1, pp. 163–189. DOI: 10.1016/S0749-0704(18)30273-2 (In English)

References

- Altenburg, S. P., Martins, M. A., Silva, A. R. et al. (1997) LPS-induced blood neutrophilia is inhibited by alpha 1-adrenoceptor antagonists: A role for catecholamines. *The Journal of Leukocyte Biology*, vol. 61, no. 6, pp. 689–694. PMID: 9201259. DOI: 10.1002/jlb.61.6.689 (In English)
- Beck-Schimmer, B., Baumann, L., Restin, T. et al. (2017) Sevoflurane attenuates systemic inflammation compared with propofol, but does not modulate neuro-inflammation: A laboratory rat study. *European Journal of Anaesthesiology*, vol. 34, no. 11, pp. 764–775. PMID: 28759530. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000668 (In English)
- Benveniste, E. N. (1998) Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine & Growth Factors Reviews*, vol. 9, no. 3–4, pp. 259–275. PMID: 9918124. DOI: 10.1016/S1359-6101(98)00015-X (In English)
- Black, P. H. (1994) Immune system-central nervous system interactions: Effect and immunomodulatory consequences of immune system mediators on the brain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 38, no. 1, pp. 7–12. PMID: 8141583. DOI: 10.1128/AAC.38.1.7 (In English)
- Bone, R. C. (1996) Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: What we do and do not know about cytokine regulation. *Critical Care Medicine*, vol. 24, no. 1, pp. 163–172. PMID: 8565523. DOI: 10.1097/00003246-199601000-00026 (In English)
- Bone, R. C., Balk, R. A., Cerra, F. B. et al. (1992) Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*, vol. 101, no. 6, pp. 1644–1655. PMID: 1303622. DOI: 10.1378/chest.101.6.1644 (In English)
- Cao, C., Matsumura, K., Yamagata, K., Watanabe, Y. (1997) Involvement of cyclooxygenase-2 in LPS-induced fever and regulation of its mRNA by LPS in the rat brain. *American Journal of Physiology*, vol. 272, no. 6, pt. 2, pp. R1712–R1725. PMID: 9227582. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.272.6.R1712 (In English)
- Castro-Faria-Neto, H. C., Penido, C. M., Lorangeira, A. P. et al. (1997) A role for lymphocytes and cytokines on the eosinophil migration induced by LPS. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 92, suppl. II, pp. 197–200. PMID: 9698933. DOI: 10.1590/s0074-02761997000800026 (In English)
- Chereshnev, V. A., Gusev, E. Yu. (2002) Sistemnoe vospalenie kak immunopatobiologicheskij fenomen [Systemic inflammation as an immunopathobiological phenomenon]. *Tsitokiny i vospalenie — Cytokines and inflammation*, vol. 1, no. 2, p. 17. (In Russian)
- Chereshnev, V. A., Shilov, M. I., Chereshneva M. V., et al. (2011) *Eksperimental'nye modeli v patologii [Experimental models in pathology]*. Perm: Perm State University Publ., 267 p. (In Russian)
- Feuerstein, G., Hallenbeck, J. M., Vanatta, B. et al (1990) Effect of gram-negative endotoxin on levels of serum corticosterone, TNF alpha, circulating blood cells, and the survival of rats. *Circulatory Shock*, vol. 30, no. 3, pp. 265–78. PMID: 2178800. (In English)
- Galkin, A. A., Demidova, V. S. (2015) Nejtrofily i sindrom sistemnogo vospalitel'nogo otveta [Neutrophils and systemic inflammatory response syndrome]. *Rany i ranevye infekcii. Zhurnal imeni prof. B. M. Kostyuchenka — Wounds and Wound Infections. The Prof. B. M. Kostyuchenok Journal*, vol. 2, no. 2, pp. 25–31. (In Russian)
- Garami, A., Steiner, A. A., Romanovsky, A. A. (2018) Fever and hypothermia in systemic inflammation. *Handbook of Clinical Neurology*, vol. 157, pp. 565–597. PMID: 30459026. DOI: 10.1016/B978-0-444-64074-1.00034-3 (In English)
- Gelfand, B. R., Saltanov, A. I. (ed.) (2009) *Intensivnaya terapiya: natsional'noe rukovodstvo [Intensive care: A national manual]*: In 2 vols. Vol. 1. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 955 p. (In Russian)
- Herzum, I., Renz, H. (2008) Inflammatory markers in SIRS, sepsis and septic shock. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 15, no. 6, pp. 581–587. PMID: 18336272. DOI: 10.2174/092986708783769704 (In English)
- Kao, S. J., Wang, D., Lin, H. I., Chen, H. I. (2006) N-acetylcysteine abrogates acute lung injury induced by endotoxin. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, vol. 33, no. 1–2, pp. 33–40. PMID: 16445696. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2006.04320.x (In English)
- Kazerani, H. R., Furman, B. L. (2006) Comparison of urethane/chloralose and pentobarbitone anaesthesia for examining effects of bacterial lipopolysaccharide in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, vol. 20, no. 4, pp. 379–384. PMID: 16867022. DOI: 10.1111/j.1472-8206.2006.00413.x (In English)

- Kim, Y. K., Amidfar, M., Won, E. (2019) A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, vol. 91, pp. 103–112. PMID: 29932946. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.06.008 (In English)
- Mathiak, G., Grass, G., Herzmann, T. et al. (2000) Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses. *British Journal of Pharmacology*, vol. 131, no. 3, pp. 383–386. PMID: 11015286. DOI: 10.1038/sj.bjp.0703629 (In English)
- Mezhirnova, N. M., Danilova V. V., Ovcharenko, S. S. (2011) Patofiziologicheskie i diagnosticheskie aspekty sindroma sistemnogo vospalitel'nogo otveta [Pathophysiological and diagnostic aspects of the systemic inflammatory response syndrome]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy — Emergency Medicine*, no. 1–2, pp. 34–40. (In Russian)
- Müller, N. (2017) Immunological aspects of the treatment of depression and schizophrenia. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, vol. 19, no. 1, pp. 55–63. PMID: 28566947. (In English)
- Probert, L. (2015) TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. *Neuroscience*, vol. 302, pp. 2–22. PMID: 26117714. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.038 (In English)
- Roelfsema, V., Thomas, G. B., Lin, H. et al. (2001) The metabolic effects of endotoxin are differentially affected by the pattern of GH administration in the rat. *Journal of Endocrinology*, vol. 171, no. 1, pp. 173–181. PMID: 11572801. DOI: 10.1677/joe.0.1710173 (In English)
- Rudiger, A., Stotz, M., Singer, M. (2008) Cellular processes in sepsis. *Swiss Medical Weekly*, vol. 138, no. 43–44, pp. 629–634. PMID: 19005868. (In English)
- Schläpfer, M., Piegeler, T., Dull, R. O. et al. (2015) Propofol increases morbidity and mortality in a rat model of sepsis. *Critical Care*, vol. 19, article 45. PMID: 25887642. DOI: 10.1186/s13054-015-0751-x (In English)
- Short, A., Wong, A. K., Finch, A. M. et al. (1999) Effects of a new C5a receptor antagonist on C5a- and endotoxin-induced neutropenia in the rat. *British Journal of Pharmacology*, vol. 126, no. 3, pp. 551–554. PMID: 10188960. DOI: 10.1038/sj.bjp.0702338 (In English)
- Simbirtsev, A. S., Totolyan, A. A. (2015) Tsitokiny v laboratornoj diagnostike [Cytokines in laboratory diagnostics]. *Infektsionnye bolezni — Infectious Diseases*, no. 2, pp. 82–98. (In Russian)
- Stahl, O., Löffler, B., Haier, J. et al. (2013) Mimicry of human sepsis in a rat model — prospects and limitation. *Journal of Surgical Research*, vol. 179, no. 1, pp. e167–e175. PMID: 22482762. DOI: 10.1016/j.jss.2012.01.042 (In English)
- Steven, S., Dib, M., Roohani, S. et al. (2017) Time response of oxidative/nitrosative stress and inflammation in LPS-induced endotoxemia — a comparative study of mice and rats. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 10, article 2176. PMID: 29057830. DOI: 10.3390/ijms18102176 (In English)
- Tumanova, T. S., Aleksandrov, V. G. (2016) Vliyaniye bakterial'nogo lipopolisakharida na reflektornye mekhanizmy kardiorespiratornoj sistemy anestezirovannoy krysy [The effect of bacterial lipopolysaccharide on the reflex mechanisms of the cardiorespiratory system of anesthetized rat]. In: A. I. Grigor'ev, Yu. V. Natchin, R. I. Sepiashvili et al. (eds.). *Nauchnye trudy V Sezda fiziologov SNG, V Sezda biokhimikov Rossii, Konferentsii ADFLIM. [Academic Works of V Congress of CIS physiologists, V Congress of Biochemists of Russia, ADFLIM conference]*. Sochi: s. n., p. 158. (*Acta Naturae*. Special issue, vol. 1). (In Russian)
- Wagner, J. G. Roth, R. A. (1999) Neutrophil migration during endotoxemia. *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 66, no. 1, pp. 10–24. PMID: 10410985. DOI: 10.1002/jlb.66.1.10 (In English).
- Wong, K. A., Rodriguez, A. (2008) Plasmodium infection and endotoxic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells. *The Journal of Immunology*, vol. 180, no. 2, pp. 716–726. PMID: 18178809. DOI: 10.4049/jimmunol.180.2.716 (In English)
- Zimmerman, J. J., Ringer, T. V. (1992) Inflammatory host responses in sepsis. *Progress in Pediatric Critical Care*, vol. 8, no. 1, pp. 163–189. DOI: 10.1016/S0749-0704(18)30273-2 (In English)

УДК 612.591.1

DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-61-71

Эффекты электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на нейрональную активность спинального ядра тройничного нерва крысы

С. С. Пантелеев^{✉1,2}, И. Б. Сиваченко¹, О. А. Любашина^{1,2}, Д. С. Медведев^{3,4}, А. Ю. Соколов^{1,2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, 199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Институт фармакологии им. А. В. Вальдмана Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И. П. Павлова, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8

³ Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, 188663, Россия, Ленинградская обл., г. п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. 93

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, 191015, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

Сведения об авторах

Пантелеев Сергей Степанович, SPIN-код: 7355-6363, Scopus AuthorID: 7004708690, ORCID: 0000-0002-5090-971X, e-mail: panteleev0@gmail.com

Сиваченко Иван Борисович, SPIN-код: 4049-8950, Scopus AuthorID: 55882139900, ORCID: 0000-0001-8548-8823, e-mail: AVANS_d@mail.ru

Любашина Ольга Анатольевна, SPIN-код: 5257-4057, Scopus AuthorID: 6505777191, ORCID: 0000-0002-6296-4628, e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Медведев Дмитрий Станиславович, SPIN-код: 7516-606, Scopus AuthorID: 35776874000, ORCID: 0000-0001-7401-258X, e-mail: gpech@fmbamail.ru

Соколов Алексей Юрьевич, SPIN-код: 1571-6283, Scopus AuthorID: 15849563500, ORCID: 0000-0002-6141-486X, e-mail: alexey.y.sokolov@gmail.com

Для цитирования:

Пантелеев, С. С., Сиваченко, И. Б., Любашина, О. А., Медведев, Д. С., Соколов, А. Ю. (2020) Эффекты электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на нейрональную активность спинального ядра тройничного нерва крысы. *Интегративная физиология*, т. 1, № 1, с. 61–71. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-61-71

Получена 4 июля 2019; прошла рецензирование 18 июля 2019; принята 5 августа 2019.

Права: © Авторы (2020).

Опубликовано Российским государственным педагогическим университетом им. А. И. Герцена. Открытый доступ на условиях лицензии CC BY-NC 4.0.

Аннотация. В нейрофизиологических экспериментах на наркотизированных крысах на модели мигрени изучалось влияние непрерывного низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (ЭМИ ММД; частота 40 ГГц, плотность мощности 0.04 мВт/см²) на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов спинального ядра тройничного нерва (СЯТН). Известно, что локальные воздействия ЭМИ ММД на определенные области кожных покровов могут сопровождаться системным терапевтическим эффектом при лечении разных патологий. В частности, это касается использования ЭМИ ММД для лечения головных болей разного генеза, одной из наиболее распространенных форм которых является мигрень, представляющая собой хроническое неврологическое заболевание. Характерный признак мигрени — эпизодические приступы пульсирующей головной боли разной интенсивности. Механизм возникновения ее недостаточно ясен, однако известно, что в патологии этого заболевания ключевую роль играет СЯТН, обеспечивающее первичную обработку болевых сигналов от сосудов мозговых оболочек и передачу этих сигналов в вышележащие структуры мозга, в частности в таламус. Ранее было показано, что воздействие частотно-модулированного ЭМИ ММД сопровождается кратковременными тормозными изменениями фоновой и вызванной электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активности нейронов СЯТН. Мы предположили, что использование немодулированного ЭМИ ММД позволит увеличить продолжительность тормозного влияния излучения на фоновую и вызванную активность нейронов СЯТН и тем самым подтвердит потенциальный антиноцицептивный эффект ЭМИ ММД в отношении мигрени. Результаты наших опытов показали, что воздействие немодулированного ЭМИ ММД на кожное рецептивное поле нейронов СЯТН сопровождается продолжительным и кумулятивным тормозным влиянием как на фоновую активность нейронов исследуемого ядра, так и на их реакции, вызванные электростимуляцией твердой мозговой оболочки. Полученные данные позволяют рассматривать продемонстрированные эффекты как свидетельство в пользу потенциального антимигренозного действия низкоинтенсивного немодулированного ЭМИ ММД. Предполагается, что в основе этого действия лежит активация нервных и иммунных процессов в коже, которые благодаря вовлечению цепи нейрональных механизмов приводят к снижению возбудимости нейронов СЯТН, участвующих в патогенезе мигрени.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, спинальное ядро тройничного нерва, нейрональная активность, мигрень.

Effects of electromagnetic millimeter waves on the neuron activity of the spinal trigeminal nucleus of the rat

S. S. Pantelev^{1, 2}, I. B. Sivachenko¹, O. A. Lyubashina^{1, 2}, D. S. Medvedev^{3, 4}, A. Yu. Sokolov^{1, 2}

¹ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, 6 Makarova Emb., Saint Petersburg 199034, Russia

² Valdman Institute of Pharmacology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6/8 Lev Tolstoy Str., Saint Petersburg 197022, Russia

³ Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, Kapitolovo St., Bldg 93, Kuzmolovsky Municipal Settl., Leningrad Region 188663, Russia

⁴ North-West Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 41 Kirochnaya Str., Saint Petersburg 191015, Russia

Authors

Sergey S. Pantelev, SPIN: 7355-6363, Scopus AuthorID: 7004708690, ORCID: 0000-0002-5090-971X, e-mail: pantelev0@gmail.com

Ivan B. Sivachenko, SPIN: 4049-8950, Scopus AuthorID: 824887, ORCID: 0000-0001-8548-8823, e-mail: AVANS_d@mail.ru

Olga A. Lyubashina, SPIN: 5257-4057, Scopus AuthorID: 6505777191, ORCID: 0000-0002-6296-4628, e-mail: lyubashinaoa@infran.ru

Dmitry S. Medvedev, SPIN: 7516-606, Scopus AuthorID: 35776874000, ORCID: 0000-0001-7401-258X, e-mail: gpech@fmbamail.ru

Alexey Yu. Sokolov, SPIN: 1571-6283, Scopus AuthorID: 15849563500, ORCID: 0000-0002-6141-486X, e-mail: alexey.y.sokolov@gmail.com

For citation: Pantelev, S. S., Sivachenko, I. B., Lyubashina, O. A., Medvedev, D. S., Sokolov, A. Yu. (2020) Effects of electromagnetic millimeter waves on the neuron activity of the spinal trigeminal nucleus of the rat. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 61–71. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-61-71

Received 5 July 2019; reviewed 18 July 2019; accepted 5 August 2019.

Copyright: © The Authors (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The study examined the effects of continuous low-intensity electromagnetic millimeter waves (MMW; frequency 40 GHz, power density of 0.04 mW/cm²) on ongoing firing of the spinal trigeminal nucleus (STN) neurons and their responses to the electrical stimulation of the dura mater in neurophysiological experiments on anesthetized rats. It is known that local exposure of MMW to certain areas of the skin can have a systemic therapeutic effect in the treatment of various pathologies. In particular, it concerns the use of MMW to treat headache of different genesis, with migraine being the most common form. The mechanisms of migraine are not clear, but it is known that the STN plays a key role in the migraine pathogenesis, providing the primary processing of pain signals from the cranial vessels as well as the transmission of these signals to overlying brain structures, in particular, to the thalamus. Recently, it has been reported that the frequency-modulated MMW causes short-term inhibitory changes in both the background activity of STN neurons and their responses to electrical stimulation of the dura mater. We assumed that the use of MMW in the unmodulated mode will allow to increase the duration of the MMW inhibitory effect on the background and evoked activity of STN neurons and thereby confirm potential antinociceptive action of MMW in migraine. The results of the present study have showed that the exposure of the STN neurons' cutaneous receptive fields to unmodulated MMW is accompanied by prolonged cumulative inhibition of both the background activity of these neurons and their dural electrostimulation-evoked responses. The data allow considering these effects as an evidence in favour of potential antimigraine action of a continuous low-intensity MMW. It is proposed that the action can be based on the activation of nervous and immune processes in the skin, which, through a chain of neuronal mechanisms, can lead to a decrease in the excitability of STN neurons involved in the pathogenesis of migraine.

Keywords: electromagnetic millimeter waves, spinal trigeminal nucleus, neuronal activity, migraine.

Введение

Начиная с 80-х гг. прошлого века все большее внимание клиницистов привлекают методы, связанные с использованием электромагнитного излучения миллиметрового диапазона (ЭМИ ММД) низкой интенсивности (Pakhomov et al. 1998; Rojavin, Ziskin 1998; Бецкий и др. 2004). В частности, показано, что локальные воздействия ЭМИ ММД на определенные области кожных покровов могут сопровождаться системным терапевтическим эффектом при лечении патологий сердечно-сосудистой, дыхательной, пи-

щеварительной, мочеполовой, эндокринной, иммунной систем, некоторых видов онкологий, а также ряда неврологических расстройств (Logani et al. 2002, 2006; Safronova et al. 2002; Radzievsky et al. 2004; Usichenko et al. 2006; Медведев и др. 2013; Ziskin 2013). Кроме того, ряд наблюдений свидетельствует об антиноцицептивных эффектах ЭМИ ММД (Rojavin et al. 2000; Radzievsky et al. 2000; 2001; 2008; Partyla et al. 2017). В этом контексте особое внимание привлекает использование ЭМИ ММД для лечения хронических болевых синдромов, в частности головных болей разного генеза. Например, использование

ЭМИ ММД может приводить к прекращению или существенному уменьшению интенсивности, частоты и длительности приступов головных болей (Джелдубаева и др. 2012). Одной из наиболее распространенных форм головной боли является мигрень, представляющая собой хроническое неврологическое заболевание, характерным признаком которого являются эпизодические приступы пульсирующей головной боли разной интенсивности, возникающие вследствие дисбаланса возбудительных и тормозных процессов в системе тройничного нерва (Messlinger 2009; Амелин и др. 2011; Edvinsson et al. 2012; Akerman et al. 2013; 2017). Механизмы антиноцицептивного действия ЭМИ ММД на головную боль в настоящее время неясны, что делает их изучение актуальной задачей. Известно, что ключевой структурой в патологии мигрени является спинальное ядро тройничного нерва (СЯТН), нейроны которого осуществляют первичную обработку ноцицептивных сигналов от сосудов мозговых оболочек и передачу их в вышележащие центры головного мозга. Предполагается, что торможение фоновой и вызванной электрической или химической стимуляцией твердой мозговой оболочки активности этих нейронов при введении определенных фармакологических субстанций или электростимуляции некоторых нервов может рассматриваться как антиноцицептивный эффект указанных воздействий в отношении головной боли (Burstein et al. 1998; Пантелеев и др. 2004; Sokolov et al. 2010; Eldener, Dalkara 2014; Lyubashina et al. 2017). Ранее с использованием экспериментальной модели краниоваскулярной боли на крысах было установлено, что 10-минутное воздействие модулированного с частотой $10,0 \pm 0,5$ Гц ЭМИ ММД низкой интенсивности (40 ГГц) при плотности мощности излучения $0,04$ мВт/см² на область кожных рецептивных полей нейронов СЯТН кратковременно подавляет как фоновую, так и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность этих нейронов. Однако последующие применения указанного воздействия с интервалом 10 минут (кумулятивный режим) оказались неэффективными (Сиваченко и др. 2015). Мы предположили, что использование ЭМИ ММД в режиме непрерывного (немодулированного) излучения позволит увеличить продолжительность тормозного эффекта на фоновую и вызванную электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активность нейронов спинального ядра тройничного нерва и тем самым подтвердить потенциальный антиноцицептивный эффект ЭМИ ММД в отношении головной боли. Поэтому целью насто-

ящего исследования было оценить эффекты непрерывного ЭМИ ММД на фоновую и вызванную электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активность нейронов спинального ядра тройничного нерва.

Методы исследования

Исследование проведено на 13 наркотизированных уретаном (1,2–1,5 мг/кг. в. б.; ICN Biomedical Inc, Santa Ana, CA, USA) крысах линии Wistar массой 250–300 г, выведенных и содержащихся в стандартных условиях вивария Института физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук (Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности Института физиологии им. И. П. Павлова РАН). Все эксперименты выполнены в соответствии с требованиями Комиссии по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И. П. Павлова Российской академии наук (заключение № 11/9 от 03.09.2018). Животные были случайным образом разделены на две группы (экспериментальная — 8 крыс и контрольная — 5 крыс). Оперативная подготовка животных, установка электродов и излучателя в обеих группах была одинаковой, но в контрольной группе электромагнитное воздействие не производилось.

После достижения хирургического уровня наркотизации производили катетеризацию бедренных вены и артерии для введения фармакологических препаратов и мониторинга артериального давления крови с помощью полупроводникового датчика давления (MLT0670, ADInstruments Ltd., Oxford, UK) соответственно. Для подключения животного к аппарату искусственной вентиляции легких (модернизированный аппарат «ВИТА-1», Россия) выполняли трахеостомию, после чего животное помещали в стереотаксический аппарат («Медикор», Венгрия). Для экспозиции твердой мозговой оболочки в области верхнего сагиттального синуса производили левостороннюю теменную краниотомию. Раздражение твердой мозговой оболочки (ТМО) в области верхнего сагиттального синуса осуществляли с помощью накладных биполярных серебряных электродов диаметром 0,3 мм и сопротивлением около 50 кОм. Электрическую стимуляцию осуществляли одиночными прямоугольными импульсами тока силой 400–500 мкА и длительностью 0,3–0,5 мс с помощью управляемого от компьютера электро-стимулятора (Isostim A320, World Precision Instruments Inc, Sarasota, FL, USA). Контроль

и поддержание температуры тела (37–38 °C) животного осуществляли с помощью ректального термометра и нагреваемой водяным термостатом подложки соответственно. Адекватность хирургического уровня наркотизации оценивали по уровню артериального давления (70–100 мм рт. ст.). Перед переводом животного на искусственную вентиляцию легких вводили миорелаксант — пипекурония бромид (начально: 1,2 мг/кг, в/в, затем по 0,6 мг/кг, по мере необходимости; Gedeon Richter, Budapest, Hungary).

Активность нейронов спинального ядра тройничного нерва регистрировали с помощью вольфрамовых микроэлектродов с диаметром кончика 2–5 мкм и сопротивлением 8–12 МОм (World Precision Instruments Inc, Sarasota, FL, USA). Погружение микроэлектрода в ткань мозга осуществляли с помощью электронного микропогружателя с шагом 4 мкм на глубину 0,2–0,4 мм от дорсальной поверхности в области от 0 до 2,0 мм каудальнее задвижки и на расстоянии от 2,0 мм до 2,8 мм латеральнее средней линии. Регистрировали активность нейронов, отвечавших возбудительной реакцией на электрическое и механическое раздражение (с помощью волосков Фрея) твердой мозговой оболочки в области верхнего сагиттального синуса, а также на механическое раздражение (поглаживание стеклянной палочкой) поверхности кожи лицевой части головы.

Сигнал, отводимый от микроэлектрода, подавался на усилитель DAM 80 (World Precision Instruments Inc, Sarasota, FL, USA) и после усиления и фильтрации поступал на вход аналого-цифрового преобразователя (PCI-1202H, ICPDAS, Тайвань) для ввода в компьютер, визуализации в реальном времени и сохранения на жестком диске для последующей обработки. Построение перистимульных гистограмм, управление стимуляцией твердой мозговой оболочки и отображение результатов осуществлялось в режиме реального времени с помощью программного обеспечения (Пантелеев и др. 2004), которое позволяло производить дифференциальную амплитудную дискриминацию из суммарной записи до трех спайковых последовательностей с отдельным построением гистограмм для каждой из них. Изменения частоты фоновой активности и частоты вызванных стимуляцией твердой мозговой оболочки разрядов исследованных нейронов производили по перистимульным гистограммам, накапливаемым по 20 реализациям с бином в 1 мс и с пре- и постстимульной эпохами анализа длительностью 250 мс каждая и частотой повторения 20 стимулов в минуту. При этом фоновую и вызванную актив-

ность нейронов оценивали как приведенные к одной реализации средние частоты разрядов за 250 мс до и 250 мс после электрического раздражения твердой мозговой оболочки соответственно.

Электромагнитное воздействие на кожное рецептивное поле исследованных нейронов осуществляли с помощью экспериментальной модели аппарата КВЧ-ИК (ООО «Триомед», Россия), излучатель которого площадью 0,12 см² фиксировали в области рецептивного поля. Частота излучения составляла 40 ГГц в непрерывном режиме при средней плотности мощности излучения 0,04 мВт/см². Электромагнитное воздействие на рецептивное поле нейронов спинального ядра тройничного нерва выполняли сериями, состоящими из трех периодов длительностью 10 мин каждый с 10-минутными паузами между ними. Электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки производили за 5 мин до начала эксперимента, затем повторяли каждые 10 мин в течение 60 мин. Таким образом, регистрацию ответов нейронов на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки производили как на фоне периодов излучения, так и во время пауз между ними. Подобная парадигма позволила оценить как собственно эффект электромагнитного воздействия, так и его возможный кумулятивный эффект на нейрональную активность спинального ядра тройничного нерва. В контрольной группе животных парадигма регистрации нейрональных реакций на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки сохранялась, но электромагнитное воздействие не производилось.

Графическая и статистическая обработка данных выполнялась с применением программ Origin 7.5 (Origin Lab Corp, Northampton, MA, USA) и InStat (GraphPad Software, Inc, USA). Значимость изменений в фоновой или вызванной нейрональной активности внутри контрольной и экспериментальной групп определялась с помощью парных непараметрических тестов Фридмана и Вилкоксона. Межгрупповые сравнения по показателям фоновой или вызванной активности нейронов во временных точках, соответствующих парадигме эксперимента, осуществлялись с применением теста Манна — Уитни. Данные представлены как среднее значение $\pm$ SEM.

Для определения локализации кончика регистрирующего электрода через него пропускали постоянный ток (0,05 мА, в течение 30 с), после чего осуществляли эвтаназию животного внутривенным введением уретана в дозе не менее 3 г/кг. Стволовую часть мозга иссекали и помещали в 10% буферный раствор формалина.

На замораживающем микротоме изготавливали поперечные 40-микронные срезы, которые окрашивали тионином (Sigma Aldrich, Corp, St. Louis, MO, USA). Локализацию места отведения идентифицировали по атласу мозга крысы (Paxinos, Watson 1998).

Результаты исследования

В ходе экспериментов была зарегистрирована фоновая и вызванная электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активность 63 нейронов, локализованных преимущественно в медиальной части спинального ядра тройничного нерва (рис. 1А) и имеющих кожные рецептивные поля в области ипсилатеральной поверхности вибриссной подушки и верхней губы (рис. 1В). Из них для последующего анализа были выбраны 36 нейронов, отвечавших стабильным разрядом на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки и реагирующих на механическое раздражения рецептивного поля.

Средняя частота фоновых разрядов этих клеток составляла $5,9 \pm 1,43$ имп/с ($n = 36$). Электрическое раздражение твердой мозговой оболочки вызывало у исследованных нейронов реакцию в виде пачечного разряда, который состоял из 8–13 спайков со средней латентностью $15,1 \pm 1,7$ мс ($n = 36$), соответствующей активации Аδ-волокон тройничного нерва

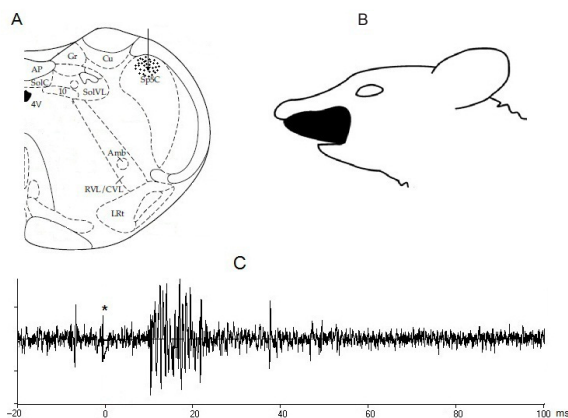


Рис. 1. Область регистрации нейронов спинального ядра тройничного нерва (sp5) на уровне –13,68 мм относительно брегмы (А) и область воздействия электромагнитного излучения (В). Типичная реакция нейрона спинального ядра тройничного нерва на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки (С)

Fig. 1. Area of the recording of the spinal trigeminal nucleus (sp5) neurons at the level of –13.68 mm from the bregma (A) and area of the exposure to electromagnetic radiation (B). Typical reaction of a spinal trigeminal nucleus neuron to electrical stimulation of the dura mater (C)

(рис. 1С). При этом средняя частота разрядов достоверно увеличивалась до $27,9 \pm 2,6$ имп/с ($n = 36$, $P < 0,0001$, парный тест Вилкоксона).

В контрольной группе животных (5 крыс) в отсутствие воздействия электромагнитного излучения последовательное применение электрической стимуляции твердой мозговой оболочки сопровождалось тенденцией к увеличению фоновой активности и реакций нейронов, однако этот эффект не достигал статистически достоверных значений, изменяясь в пределах от $156 \pm 51\%$ до $202 \pm 43\%$ ($n = 13$, $P = 0,34$, $Fr = 6,8$, тест Фридмана) и от $112 \pm 7\%$ до $127 \pm 10,5\%$

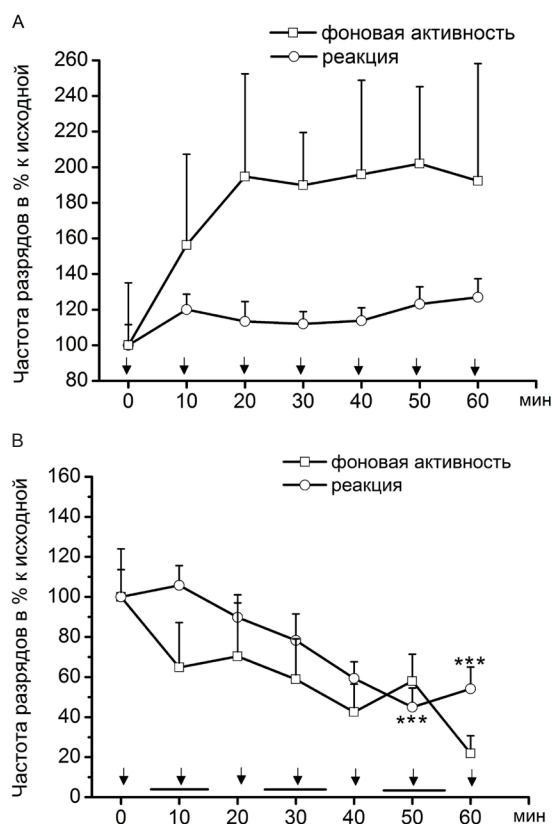


Рис. 2. Изменения фоновой и вызванной активности нейронов СЯТН в контрольной (А) и экспериментальной (В) группах крыс. Стрелки — моменты электрической стимуляции твердой мозговой оболочки, горизонтальные линии — отметки действия ЭМИ ММД, *** — $P < 0,001$ по отношению к исходным значениям. По оси ординат — частота разрядов нейронов в % к исходному значению, по оси абсцисс — время в минутах

Fig. 2. Changes in background and evoked activity of the spinal trigeminal nucleus neurons in control (A) and experimental (B) groups of rats. Arrows: electrical stimulation of the dura matter, horizontal lines: effect of MMW, *** — $P < 0.001$ in comparison with the initial values. Y-axis: frequency of neuronal discharges as a percentage of the initial value, X-axis: time in minutes

($n = 15$, $P = 0,19$, $Fr = 8,7$), относительно исходных значений, соответственно (рис. 2А).

В экспериментальной группе животных (8 крыс) воздействие ЭМИ ММД сопровождалось тенденцией к снижению фоновой активности ($n = 11$, $P = 0,38$, $Fr = 6,4$, тест Фридмана), которое варьировалось от $70,4 \pm 26,6\%$ до $21,9 \pm 8,8\%$ относительно исходного значения. Реакции нейронов на стимуляцию твердой мозговой оболочки достоверно уменьшались ($n = 12$, $P = 0,0001$, $Fr = 34,0$, тест Фридмана). Этот эффект усиливался после каждого последовательного воздействия ЭМИ ММД, изменяясь от $105,8 \pm 9,8\%$ до $45,0 \pm 9,5\%$ и достигая статистически значимого уровня через 50 и 60 мин от начала эксперимента ($P = 0,001$ и $P = 0,0005$, $n = 12$, парный тест Вилкоксона) (рис. 2В, 3).

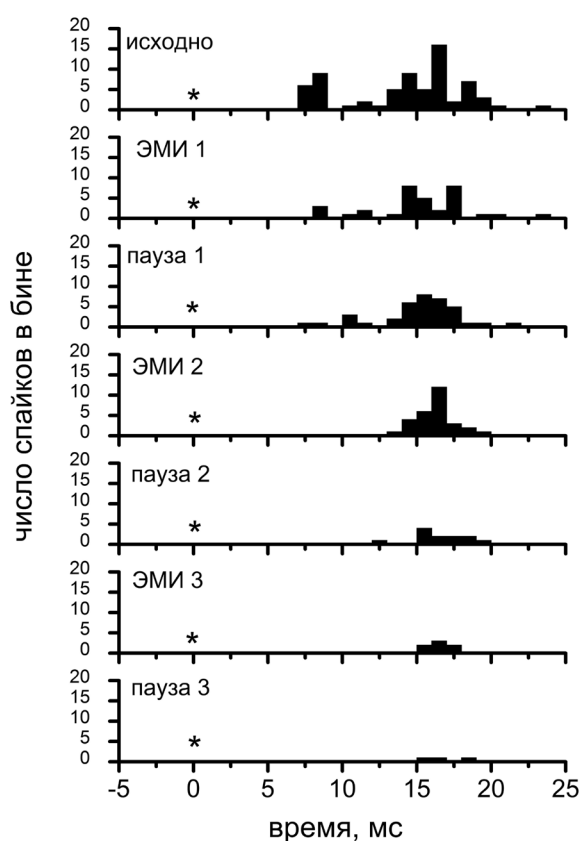


Рис. 3. Гистограммы, иллюстрирующие кумулятивное изменение ответов нейрона СЯТН на электрическую стимуляцию твердой мозговой оболочки при действии трех последовательных воздействий ЭМИ ММД на рецептивное поле данного нейрона. По осям ординат — число спайков в бине, по осям абсцисс — время в миллисекундах

Fig. 3. Histograms showing cumulative changes in responses of the spinal trigeminal nucleus neurons to electrical stimulation of the dura matter after the neuron receptive field was exposed to three consecutive MMW sessions. Y-axis: number of spikes in the bin, X-axis: time in milliseconds

Сравнение изменений фоновой частоты разрядов в контрольной и экспериментальной группах во временных точках, соответствующих парадигме эксперимента, показало, что электромагнитное излучение вызывает существенное уменьшение фоновой активности, которое нарастало к концу эксперимента, указывая на кумулятивный характер этого эффекта ($P = 0,002$, $U = 20,0$, тест Манна — Уитни) (рис. 4). Сравнение изменений частоты разрядов в реакции нейронов на электростимуляцию твердой мозговой оболочки в контрольной и экспериментальной группах показало, что электромагнитное излучение сопровождается существенным уменьшением вызванной нейрональной активности, которое также нарастало к концу эксперимента, свидетельствуя о кумуляции действия ЭМИ ММД ($P = 0,002$, $U = 20,0$, тест Манна — Уитни) (рис. 5).

Таким образом, на нейрофизиологической модели краниально-васкулярной боли на крысах показано, что последовательные 10-минутные воздействия непрерывного низкоинтенсивного ЭМИ ММД излучения (40 ГГц, средняя плотность мощности $0,04 \text{ мВт/см}^2$) на область кожных рецептивных полей нейронов спинального ядра тройничного нерва оказывает продолжительное

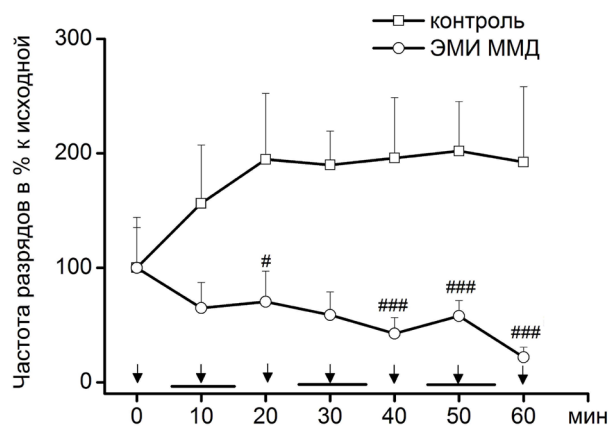


Рис. 4. Кривые, иллюстрирующие эффект ЭМИ ММД на фоновую активность нейронов СЯТН. Стрелки — моменты электрической стимуляции твердой мозговой оболочки, горизонтальные линии — отметки действия ЭМИ ММД, ### — $P < 0,001$ по отношению к значениям в контрольной группе. По оси ординат — частота разрядов нейронов в % к исходному значению, по оси абсцисс — время в минутах

Fig. 4. Curves demonstrating the effect of MMW on background activity of the spinal trigeminal nucleus neurons. Arrows: electrical stimulation of the dura matter, horizontal lines: effect of MMW, ### — $P < 0.001$ in comparison with the initial values. Y-axis: frequency of neuronal discharges as a percentage of the initial value, X-axis: time in minutes

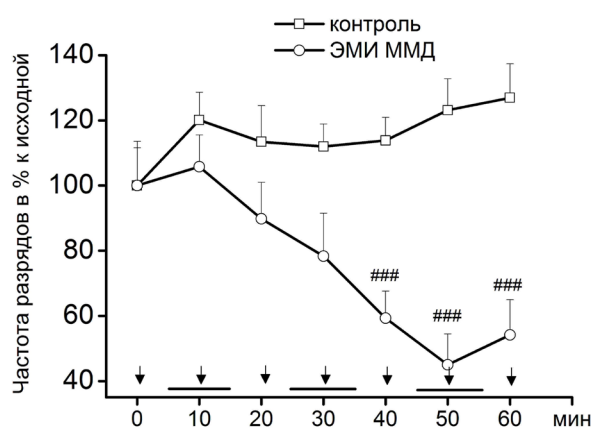


Рис. 5. Кривые, иллюстрирующие эффект ЭМИ ММД на вызванные реакции нейронов СЯТН. Стрелки — моменты электрической стимуляции твердой мозговой оболочки, горизонтальные линии — отметки действия ЭМИ ММД, ### — $P < 0,001$ по отношению к значениям в контрольной группе. По оси ординат — частота разрядов нейронов в % к исходному значению, по оси абсцисс — время в минутах

Fig. 5. Curves showing the effect of MMW on the evoked activity of spinal trigeminal nucleus neurons. Arrows: electrical stimulation of the dura matter, horizontal lines: effect of MMW, ### — $P < 0.001$ in comparison with the initial values. Y-axis: frequency of neuronal discharges of as a percentage of the initial value, X-axis: time in minutes

тормозное влияние на фоновую и вызванную электрическим раздражением твердой мозговой оболочки активность нейронов этого ядра. Этот эффект носит выраженный кумулятивный характер, усиливаясь после каждого последующего воздействия ЭМИ ММД и приводя в конечном счете к уменьшению поступления ноцицептивной информации от мозговых оболочек в надсегментарные структуры, связанные с обработкой болевой информации мозгом, что может рассматриваться как свидетельство в пользу потенциального антиноцицептивного действия ЭМИ ММД в отношении головной боли.

Обсуждение

В данной работе на нейрофизиологической модели мигрени на наркотизированных крысах впервые продемонстрирован тормозный кумулятивный эффект локального воздействия непрерывного низкоинтенсивного ЭМИ ММД на фоновую и вызванную электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активность нейронов спинального ядра тройничного нерва. Так, показано, что в контрольной группе нейронов повторяющаяся электрическая стимуля-

ция твердой мозговой оболочки сопровождается выраженной тенденцией к градуальному увеличению фоновой и вызванной активности нейронов СЯТН, что может указывать на возможное развитие сенситизации в системе проведения ноцицептивных сигналов от краниальных структур в ЦНС. Воздействие ЭМИ ММД на рецептивное поле исследованных нейронов (экспериментальная группа крыс) сопровождалось торможением как фоновой, так и вызванной электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки активности указанных нейронов. Предполагается, что этот эффект может отражать антиноцицептивные свойства ЭМИ ММД, которые могут быть полезны при мигрени. Хотя точные механизмы, лежащие в основе подобного эффекта воздействия ЭМИ ММД на рецептивное поле нейронов СЯТН, недостаточно ясны, можно высказать ряд предположений. Так, известно, что ЭМИ ММД характеризуется сильным поглощением в поверхностных слоях кожи (десятые доли миллиметра). Вследствие этого системные эффекты ЭМИ ММД на организм, очевидно, инициируются процессами, ограниченными верхними слоями кожных покровов (Alekseev, Ziskin 2007; Radziesky 2008, Alekseev et al. 2008; Alekseev, Ziskin 2009; Ziskin 2013). Иными словами, эти эффекты должны быть связаны с действием ЭМИ ММД на структуры эпидермиса, например на терморецептивный аппарат кожи (Alekseev, Ziskin 2003; Alekseev et al. 2005; Shapiro et al. 2013; Zhadobov et al. 2015). Однако при используемых в наших экспериментах низких интенсивностях излучения существенные температурные изменения в коже, достаточные для активации тепловых рецепторов, маловероятны. Другими процессами, инициируемыми в коже низкоинтенсивным ЭМИ ММД, может являться прямая стимуляция свободных нервных окончаний и стимуляция иммунных клеток кожи (Misery 1997), например, клеток Лангерханса, тучных клеток и кератиноцитов в эпидермисе (Ziskin 2013). Активация иммунных клеток кожи сопровождается выделением из них цитокинов, которые, в свою очередь, косвенно могут стимулировать свободные нервные окончания. Кроме того, прямая и/или косвенная стимуляция нервных элементов кожи приводит к выделению эндогенных опиоидов на уровне первого синапса в спинном мозге, которые через кровоток могут вызывать системные эффекты в разных структурах мозга (Radziesky et al. 2000; Ziskin 2013), в том числе и в СЯТН, где имеется высокая плотность опиоидных рецепторов, модулирующих поступление афферентной и, возможно, болевой инфор-

мации от краниальных структур (Williamson et al. 2001; Storer et al. 2003). Этим можно объяснить и куммулятивный характер эффектов ЭМИ ММД, предположительно связанный с накоплением эндогенных опиоидов в крови. В пользу этого предположения говорит также факт, что терапевтические эффекты ЭМИ ММД полностью блокируются системным введением налоксона — общего блокатора опиоидных рецепторов (Rojavin, Ziskin 1997; Radzievsky et al. 2008). Кроме того, показано, что наибольший эффект ЭМИ ММД наблюдается при воздействии на области кожи с максимально плотностью иннервации и полностью блокируются перерезкой соответствующих кожных нервов (Radzievsky et al. 2000). В этом отношении эф-

фекты ЭМИ ММД сходны со стимуляцией точек акупунктуры (Yip et al. 2007; Ziskin 2013).

Таким образом, локальное воздействие низкоинтенсивного непрерывного ЭМИ ММД на рецептивные поля нейронов СЯТН сопровождается куммулятивным торможением фоновой активности и реакций нейронов этого ядра, вызванных электрической стимуляцией твердой мозговой оболочки, что указывает на снижение возбудимости этих нейронов, вследствие чего уменьшается поступление болевой информации в вышележащие структуры мозга. Предполагается, что эти эффекты опосредуются влиянием ЭМИ ММД на опиоид-зависимые системы тройничного нерва, участвующие в патогенезе мигрени.

Литература

- Амелин, А. В., Игнатов, Ю. Д., Скоромец, А. А., Соколов, А. Ю. (2011) *Мигрень. Патогенез, клиника, фармакотерапия: руководство для врачей*. М.: МедПресс-Информ, 256 с.
- Бецкий, О. В., Кислов, В. В., Лебедева, Н. Н. (2004) *Миллиметровые волны и живые системы*. М.: САЙНС-ПРЕСС, 272 с.
- Джелдубаева, Э. Р., Чуян, Е. Н. (2012) *Антиноцицептивное действие миллиметрового излучения, обзор, экспериментальные данные, обобщение результатов*. Саарбрюккен: Palmarium Academic Publishing, 168 с.
- Медведев, Д. С., Молодцова, И. Д., Янова, О. А. (2013) Нейроиммуноэндокринные аспекты влияния низкоинтенсивного электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на организм человека при различной возраст-ассоциированной патологии. *Фундаментальные исследования*, № 9–5, с. 866–870.
- Пантелеев, С. С. Соколов, А. Ю., Картус, Д. Е. и др. (2004) Response of the spinal trigeminal nucleus neurons to electric stimulation of the rat dura mater. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, т. 90, № 1, с. 3–10.
- Сиваченко, И. Б., Медведев, Д. С., Молодцова, И. Д. и др. (2015) Эффект электромагнитного излучения миллиметрового диапазона на экспериментальной модели мигрени. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, т. 160, № 10, с. 420–424.
- Akerman, S., Holland, P. R., Hoffmann, J. (2013) Pearls and pitfalls in experimental in vivo models of migraine: Dural trigeminovascular nociception. *Cephalalgia*, vol. 33, no. 8, pp. 577–592. DOI: 10.1177/0333102412472071
- Akerman, S., Romero-Reyes, M., Holland, P. R. (2017) Current and novel insights into the neurophysiology of migraine and its implications for therapeutics. *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 172, pp. 151–170. PMID: 27919795. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.12.005
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2003) Local heating of human skin by millimeter waves: A kinetics study. *Bioelectromagnetics*, vol. 24, no. 8, pp. 571–581. DOI: 10.1002/bem.10137
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2007) Human skin permittivity determined by millimeterwave reflection measurements. *Bioelectromagnetics*, vol. 28, no. 5, pp. 331–339. DOI: 10.1002/bem.20308
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2009) Millimeter-wave absorption by cutaneous blood vessels: A computational study. *IEEE Transactions on biomedical engineering*, vol. 56, no. 10, pp. 2380–2388. DOI: 10.1109/TBME.2009.2024692
- Alekseev, S. I., Gordienko, O. V., Ziskin, M. C. (2008) Reflection and penetration depth of millimeter waves in murine skin. *Bioelectromagnetics*, vol. 29, no. 5, pp. 340–344. DOI: 10.1002/bem.20401
- Alekseev, S. I., Radzievsky, A. A., Szabo, I., Ziskin, M. C. (2005) Local heating of human skin by millimeter waves: Effect of blood flow. *Bioelectromagnetics*, vol. 26, no. 6, pp. 489–501. DOI: 10.1002/bem.20118
- Burstein, R., Yamamura, H., Malick, A., et al. (1998) Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *Journal of Neurophysiology*. vol. 79, no. 2, pp. 964–982. DOI: 10.1152/jn.1998.79.2.964
- Edvinsson, L., Villalón, C. M., MaassenVanDenBrink A. (2012) Basic mechanisms of migraine and its acute treatment. *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 136, no. 3, pp. 319–333. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.011
- Erdener, S. E., Dalkara, T. (2014) Modelling headache and migraine and its pharmacological manipulation. *British Journal of Pharmacology*, vol. 171, no. 20, pp. 4575–4594. DOI: 10.1111/bph.12651
- Logani, M. K., Anga, A., Szabo, I. et al. (2002) Effect of millimeterwaves on cyclophosphamide induced suppression of the immune system. *Bioelectromagnetics*, vol. 23, no. 8, pp. 614–621. DOI: 10.1002/bem.10058

- Logani, M. K., Szabo, I., Makar, V. et al. (2006) Effect of millimeterwave irradiation on tumor metastasis. *Bioelectromagnetics*, vol. 27, no. 4, pp. 258–264. DOI: 10.1002/bem.20208
- Lyubashina, O. A., Panteleev, S. S., Sokolov, A. Y. (2017) Inhibitory effect of high-frequency greater occipital nerve electrical stimulation on trigeminovascular nociceptive processing in rats. *Journal Neural Transmission (Vienna)*, vol. 124, no. 2, pp. 171–183. DOI: 10.1007/s00702-016-1626-2
- Messlinger, K. (2009) Migraine: Where and how does the pain originate? *Experimental Brain Research*, vol. 196, no. 1, pp. 179–193. DOI: 10.1007/s00221-009-1756-y
- Misery, L. (1997) Skin, immunity and the nervous system. *British Journal of Dermatology*, vol. 137, no. 6, pp. 843–850. DOI: 10.1046/j.1365-2133.1997.19762090.x
- Pakhomov, A. G., Akyel, Y., Pakhomova, O. N. et al. (1998) Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves: A review of the literature. *Bioelectromagnetics*, vol. 19, no. 7, pp. 393–413. PMID: 9771583.
- Partyla, T., Hacker, H., Edinger, H. et al. (2017) Remote effects of electromagnetic millimeter waves on experimentally induced cold pain: A double-blinded crossover investigation in healthy volunteers. *Anesthesia and Analgesia*, vol. 124, no. 3, pp. 980–985. DOI: 10.1213/ANE.0000000000001657
- Paxinos, G., Watson C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London: Academic Press, 456 p.
- Radziewsky, A. A., Rojavin, M. A., Cowan, A. et al. (2000) Hypoalgesic effect of millimeter waves in mice: Dependence on the site of exposure. *Life Sciences*, vol. 66, no. 21, pp. 2101–2111. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)00536-1
- Radziewsky, A. A., Rojavin, M. A., Cowan, A. et al. (2001) Peripheral neural system involvement in hypoalgesic effect of electromagnetic millimeter waves. *Life Sciences*, vol. 68, no. 10, pp. 1143–1151. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)01016-x
- Radziewsky, A. A., Gordienko, O. V., Szabo, I. et al. (2004) Millimeter wave-induced suppression of B16 F10 melanoma growth in mice: Involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, vol. 25, no. 6, pp. 466–473. DOI: 10.1002/bem.20018
- Radziewsky, A. A., Gordienko, O. V., Alekseev, S. et al. (2008) Electromagnetic millimeter wave induced hypoalgesia: Frequency dependence and involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, vol. 29, no. 4, pp. 284–295. DOI: 10.1002/bem.20389
- Rojavin, M. A., Radziewsky, A. A., Cowan, A., Ziskin, M. C. (2000) Pain relief caused by millimeter waves in mice: Results of cold water tail flick tests. *International Journal of Radiation. Biology*, vol. 76, no. 4, pp. 575–579. PMID: 10815639.
- Rojavin, M. A., Ziskin, M. C. (1998) Medical application of millimetre waves. *Quarterly Journal of Medicine*, vol. 91, no. 1, pp. 57–66. DOI: 10.1093/qjmed/91.1.57
- Safronova, V. G., Gabdoulkhakova, A. G., Santalov, B. F. (2002) Immunomodulating action of low intensity millimeter waves on primed neutrophils. *Bioelectromagnetics*, vol. 23, no. 8, pp. 599–606. DOI: 10.1002/bem.10056
- Shapiro, M. G., Priest, M. F., Siegel, P. H., Bezanilla, F. (2013) Thermal mechanisms of millimeter wave stimulation of excitable cells. *Biophysical Journal*, vol. 104, no. 12, pp. 2622–2628. DOI: 10.1016/j.bpj.2013.05.014
- Sokolov, A. Y., Lyubashina O. A., Panteleev S. S., Chizh, B. A. (2010) Neurophysiological markers of central sensitisation in the trigeminal pathway and their modulation by the cyclo-oxygenase inhibitor ketorolac. *Cephalalgia*, vol. 30, no. 10, pp. 1241–1249. DOI: 10.1177/0333102410365104
- Storer, R. J., Akerman, S., Goadsby, P. J. (2003) Characterization of opioid receptors that modulate nociceptive neurotransmission in the trigeminocervical complex. *British Journal of Pharmacology*, vol. 138, no. 2, pp. 317–324. DOI: 10.1038/sj.bjp.0705034
- Usichenko, T. I., Edinger, H., Gizhko, V. V. et al. (2006) Low-intensity electromagnetic millimeter waves for pain therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 3, no. 2, pp. 201–207. DOI: 10.1093/ecam/nel012
- Williamson, D. J., Shepherd, S. L., Cook, D. A. et al. (2001) Role of opioid receptors in neurogenic dural vasodilation and sensitization of trigeminal neurones in anaesthetized rats. *British Journal of Pharmacology*, vol. 133, no. 6, pp. 807–814. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704136
- Yip, Y. B., Tse, H. M., Wu, K. K. (2007) An experimental study comparing the effects of combined transcutaneous acupoint electrical stimulation and electromagnetic millimeter waves for spinal pain in Hong Kong. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, vol. 13, no. 1, pp. 4–14. DOI: 10.1016/j.ctcp.2006.08.002
- Zhadobov, M., Alekseev, S. I., Drean, Y., L. et al. (2015) Millimeter waves as a source of selective heating of skin. *Bioelectromagnetics*, vol. 36, no. 6, pp. 464–475. DOI: 10.1002/bem.21929
- Ziskin, M. C. (2013) Millimeter waves: Acoustic and electromagnetic. *Bioelectromagnetics*, vol. 34, no. 1, pp. 3–14. DOI: 10.1002/bem.21750

References

- Akerman, S., Holland, P. R., Hoffmann, J. (2013) Pearls and pitfalls in experimental in vivo models of migraine: Dural trigeminovascular nociception. *Cephalalgia*, vol. 33, no. 8, pp. 577–592. DOI: 10.1177/0333102412472071 (In English)

- Akerman, S., Romero-Reyes, M., Holland, P. R. (2017) Current and novel insights into the neurophysiology of migraine and its implications for therapeutics. *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 172, pp. 151–170. PMID: 27919795. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.12.005 (In English)
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2003) Local heating of human skin by millimeter waves: A kinetics study. *Bioelectromagnetics*, vol. 24, no. 8, pp. 571–581. DOI: 10.1002/bem.10137 (In English)
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2007) Human skin permittivity determined by millimeterwave reflection measurements. *Bioelectromagnetics*, vol. 28, no. 5, pp. 331–339. DOI: 10.1002/bem.20308 (In English)
- Alekseev, S. I., Ziskin, M. C. (2009) Millimeter-wave absorption by cutaneous blood vessels: A computational study. *IEEE Transactions on biomedical engineering*, vol. 56, no. 10, pp. 2380–2388. DOI: 10.1109/TBME.2009.2024692 (In English)
- Alekseev, S. I., Gordiienko, O. V., Ziskin, M. C. (2008) Reflection and penetration depth of millimeter waves in murine skin. *Bioelectromagnetics*, vol. 29, no. 5, pp. 340–344. DOI: 10.1002/bem.20401 (In English)
- Alekseev, S. I., Radzievsky, A. A., Szabo, I., Ziskin, M. C. (2005) Local heating of human skin by millimeter waves: Effect of blood flow. *Bioelectromagnetics*, vol. 26, no. 6, pp. 489–501. DOI: 10.1002/bem.20118 (In English)
- Amelin, A. V., Ignatov, Yu. D., Skoromets, A. A., Sokolov, A. Yu. (2011) *Migren'. Patogenez, klinika, farmakoterapiya: rukovodstvo dlya vrachej [Migraine. Pathogenesis, clinic, pharmacotherapy: A guide for physicians]*. Moscow: MedPress-Inform Publ., 256 p. (In Russian)
- Betskiy, O. V., Kislov, V. V., Lebedeva, N. N. (2004) *Millimetrovye volny i zhivye sistemy [Millimeter waves and living systems]*. Moscow: SAJNS-PRESS Publ., 272 p. (In Russian)
- Burstein, R., Yamamura, H., Malick, A., et al. (1998) Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *Journal of Neurophysiology*. vol. 79, no. 2, pp. 964–982. DOI: 10.1152/jn.1998.79.2.964 (In English)
- Dzheldubayeva, E. R., Chuyan, Ye. N. (2012) *Antinotsitseptivnoe dejstvie milimetrovogo izlucheniya, obzor, eksperimental'nye dannye, obobshchenie rezul'tatov [Antinociceptive effect of millimeter radiation, review, experimental data, summary of results]*. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 168 p. (In Russian)
- Edvinsson, L., Villalón, C. M., MaassenVanDenBrink A. (2012) Basic mechanisms of migraine and its acute treatment. *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 136, no. 3, pp. 319–333. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.011 (In English)
- Erdener, S. E., Dalkara, T. (2014) Modelling headache and migraine and its pharmacological manipulation. *British Journal of Pharmacology*, vol. 171, no. 20, pp. 4575–4594. DOI: 10.1111/bph.12651 (In English)
- Logani, M. K., Anga, A., Szabo, I. et al. (2002) Effect of millimeterwaves on cyclophosphamide induced suppression of the immune system. *Bioelectromagnetics*, vol. 23, no. 8, pp. 614–621. DOI: 10.1002/bem.10058 (In English)
- Logani, M. K., Szabo, I., Makar, V. et al. (2006) Effect of millimeterwave irradiation on tumor metastasis. *Bioelectromagnetics*, vol. 27, no. 4, pp. 258–264. DOI: 10.1002/bem.20208 (In English)
- Lyubashina, O. A., Pantelev, S. S., Sokolov, A. Y. (2017) Inhibitory effect of high-frequency greater occipital nerve electrical stimulation on trigeminovascular nociceptive processing in rats. *Journal Neural Transmission (Vienna)*, vol. 124, no. 2, pp. 171–183. DOI: 10.1007/s00702-016-1626-2 (In English)
- Medvedev, D. S., Molodtsova, I. D., Yanova, O. A. (2013) Nejroimmunoendokrinnye aspekty vliyaniya nizkointensivnogo elektromagnitnogo izlucheniya millimetrovogo diapazona na organizm cheloveka pri razlichnoj vozrast-assotsirovannoj patologii [Neuroimmuno-endocrine aspects of the influence of the low-intensity electromagnetic radiation of the millimeter range on the human body with different age-related pathology]. *Fundamental'nyye issledovaniya — Fundamental Research*, № 9-5, pp. 866–870. (In Russian)
- Messlinger, K. (2009) Migraine: Where and how does the pain originate? *Experimental Brain Research*, vol. 196, no. 1, pp. 179–193. DOI: 10.1007/s00221-009-1756-y (In English)
- Misery, L. (1997) Skin, immunity and the nervous system. *British Journal of Dermatology*, vol. 137, no. 6, pp. 843–850. DOI: 10.1046/j.1365-2133.1997.19762090.x (In English)
- Pakhomov, A. G., Akyel, Y., Pakhomova, O. N. et al. (1998) Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves: A review of the literature. *Bioelectromagnetics*, vol. 19, no. 7, pp. 393–413. PMID: 9771583. (In English)
- Pantelev, S. S., Sokolov, A. Yu., Kartus, D. E. et al. (2004) Response of the spinal trigeminal nucleus neurons to electric stimulation of the rat dura mater. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I. M. Sechenova — Russian Journal of Physiology*, vol. 90, no. 1, pp. 3–10. (In Russian)
- Partyla, T., Hacker, H., Edinger, H. et al. (2017) Remote effects of electromagnetic millimeter waves on experimentally induced cold pain: A double-blinded crossover investigation in healthy volunteers. *Anesthesia and Analgesia*, vol. 124, no. 3, pp. 980–985. DOI: 10.1213/ANE.0000000000001657 (In English)
- Paxinos, G., Watson C. (1998) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. London: Academic Press, 456 p. (In English)
- Radzievsky, A. A., Rojavin, M. A., Cowan, A. et al. (2000) Hypoalgesic effect of millimeter waves in mice: Dependence on the site of exposure. *Life Sciences*, vol. 66, no. 21, pp. 2101–2111. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)00536-1 (In English)
- Radzievsky, A. A., Rojavin, M. A., Cowan, A. et al. (2001) Peripheral neural system involvement in hypoalgesic effect of electromagnetic millimeter waves. *Life Sciences*, vol. 68, no. 10, pp. 1143–1151. DOI: 10.1016/s0024-3205(00)01016-x (In English)

- Radzievsky, A. A., Gordiienko, O. V., Szabo, I. et al. (2004) Millimeter wave-induced suppression of B16 F10 melanoma growth in mice: Involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, vol. 25, no. 6, pp. 466–473. DOI: 10.1002/bem.20018 (In English)
- Radzievsky, A. A., Gordiienko, O. V., Alekseev, S. et al. (2008) Electromagnetic millimeter wave induced hypoalgesia: Frequency dependence and involvement of endogenous opioids. *Bioelectromagnetics*, vol. 29, no. 4, pp. 284–295. DOI: 10.1002/bem.20389 (In English)
- Rojavin, M. A., Radzievsky, A. A., Cowan, A., Ziskin, M. C. (2000) Pain relief caused by millimeter waves in mice: Results of cold water tail flick tests. *International Journal of Radiation. Biology*, vol. 76, no. 4, pp. 575–579. PMID: 10815639. (In English)
- Rojavin, M. A., Ziskin, M. C. (1998) Medical application of millimetre waves. *Quarterly Journal of Medicine*, vol. 91, no. 1, pp. 57–66. DOI: 10.1093/qjmed/91.1.57 (In English)
- Safronova, V. G., Gabdoulkhakova, A. G., Santalov, B. F. (2002) Immunomodulating action of low intensity millimeter waves on primed neutrophils. *Bioelectromagnetics*, vol. 23, no. 8, pp. 599–606. DOI: 10.1002/bem.10056 (In English)
- Shapiro, M. G., Priest, M. F., Siegel, P. H., Bezanilla, F. (2013) Thermal mechanisms of millimeter wave stimulation of excitable cells. *Biophysical Journal*, vol. 104, no. 12, pp. 2622–2628. DOI: 10.1016/j.bpj.2013.05.014 (In English)
- Sivachenko, I. B., Medvedev, D. S., Molodtsova, I. D. et al. (2015) Effekt elektromagnitnogo izlucheniya millimetrovogo diapazona na eksperimental'noy modeli migreni [The effect of millimeter-wave electromagnetic radiation on an experimental model of migraine]. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, vol. 160, no. 10, pp. 420–425. (In Russian)
- Sokolov, A. Y., Lyubashina O. A., Panteleev S. S., Chizh, B. A. (2010) Neurophysiological markers of central sensitisation in the trigeminal pathway and their modulation by the cyclo-oxygenase inhibitor ketorolac. *Cephalalgia*, vol. 30, no. 10, pp. 1241–1249. DOI: 10.1177/0333102410365104 (In English)
- Storer, R. J., Akerman, S., Goadsby, P. J. (2003) Characterization of opioid receptors that modulate nociceptive neurotransmission in the trigeminocervical complex. *British Journal of Pharmacology*, vol. 138, no. 2, pp. 317–324. DOI: 10.1038/sj.bjp.0705034 (In English)
- Usichenko, T. I., Edinger, H., Gizhko, V. V. et al. (2006) Low-intensity electromagnetic millimeter waves for pain therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 3, no. 2, pp. 201–207. DOI: 10.1093/ecam/nel012 (In English)
- Williamson, D. J., Shephard, S. L., Cook, D. A. et al. (2001) Role of opioid receptors in neurogenic dural vasodilation and sensitization of trigeminal neurones in anaesthetized rats. *British Journal of Pharmacology*, vol. 133, no. 6, pp. 807–814. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704136 (In English)
- Yip, Y. B., Tse, H. M., Wu, K. K. (2007) An experimental study comparing the effects of combined transcutaneous acupoint electrical stimulation and electromagnetic millimeter waves for spinal pain in Hong Kong. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, vol. 13, no. 1, pp. 4–14. DOI: 10.1016/j.ctcp.2006.08.002 (In English)
- Zhadobov, M., Alekseev, S. I., Drean, Y., L. et al. (2015) Millimeter waves as a source of selective heating of skin. *Bioelectromagnetics*, vol. 36, no. 6, pp. 464–475. DOI: 10.1002/bem.21929 (In English)
- Ziskin, M. C. (2013) Millimeter waves: Acoustic and electromagnetic. *Bioelectromagnetics*, vol. 34, no. 1, pp. 3–14. DOI: 10.1002/bem.21750 (In English)

Influence of adrenalectomy on protective effects of urocortin I, a corticotropin-releasing factor (CRF)-related peptide, against indomethacin-induced enteropathy in rats

K. Takeuchi^{✉1,2}

¹ Kyoto Pharmaceutical University, 5 Misasagi-Nakauchi-cho, Yamashina-ku, Kyoto-shi, Kyoto 607-8414, Japan

² General Incorporated Association, Kyoto Research Center for Gastrointestinal Diseases, 671 Karasuma-Oike, Kyoto 604-8106, Japan

Author

Koji Takeuchi,
Scopus AuthorID: 56603096400,
e-mail: koji01210121@yahoo.co.jp

For citation: Takeuchi, K. (2020) Influence of adrenalectomy on protective effects of urocortin I, a corticotropin-releasing factor (CRF)-related peptide, against indomethacin-induced enteropathy in rats. *Integrative Physiology*, vol. 1, no. 1, pp. 72–74. DOI: 10.33910/****-****-2020-1-1-72-74

Received 9 July 2019; reviewed 24 July 2019; accepted 24 July 2019.

Copyright: © The Author (2020). Published by Herzen State Pedagogical University of Russia and Pavlov Institute of Physiology RAS. Open access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. The influence of adrenalectomy on indomethacin-induced enteropathy in rats was examined and the possible involvement of adrenal glucocorticoids in protective effects of urocortin I, a CRF agonist, was investigated. Male SD rats were administered indomethacin (10 mg/kg) s.c., killed 24 h later, and small intestines were examined for hemorrhagic lesions. Urocortin I (20 µg/kg) was given i.v. 10 min before indomethacin. Bilateral adrenalectomy was performed a week before the experiment. Indomethacin caused hemorrhagic lesions in small intestines, accompanied by intestinal hypermotility, enterobacterial invasion and iNOS expression. Adrenalectomy markedly increased ulcerogenic and motility responses caused by indomethacin, with further enhanced bacterial invasion and iNOS expression. This worsening effect was reproduced by pretreatment with mifepristone. Urocortin I prevented indomethacin-induced enteropathy; this effect was abrogated by astressin 2B, a CRF2 receptor antagonist, but was not affected by either adrenalectomy or mifepristone pretreatment. These results suggest that adrenalectomy aggravates indomethacin-induced enteropathy, and intestinal hypermotility response may be the key element in the mechanism underlying this aggravation, while endogenous glucocorticoids play a role in intestinal mucosal defense against these lesions but do not account for protective effects of urocortin I, which are mediated by peripheral CRF2 receptors.

Keywords: corticotropin-releasing factor (CRF), urocortin I, indomethacin-induced enteropathy, CRF2 receptor, adrenalectomy, endogenous glucocorticoids.

Introduction & Aim

Corticotropin-releasing factor (CRF), a hypothalamic neuropeptide, is the principal regulator of hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis as it triggers the release of adrenocorticotrophic hormone from the anterior pituitary gland (Martinez et al. 2004). Indomethacin-induced small intestinal lesions were prevented by urocortin I, a non-selective CRF receptor (CRFR) agonist, and aggravated by astressin, a non-selective CRFR antagonist. Both these effects, in turn, were mediated by CRF2R but not CRF1R (Kubo et al. 2010). It is assumed that CRF plays a role in intestinal mucosal defense against nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) through activation of CRF2R. However, since dexamethasone inhibits indo-

methacin-induced enteropathy (Takeuchi, Satoh 2015), it is possible that protective effects of urocortin may be, at least in part, mediated by endogenous glucocorticoids released from the adrenal gland through activation of peripheral CRF receptors. The present study examines the influences of bilateral adrenalectomy and mifepristone, a glucocorticoid receptor antagonist, on indomethacin-induced enteropathy in rats in order to investigate possible involvement of adrenal glucocorticoids in the protective effects of urocortin I (Takeuchi et al. 2016).

Methods

Male Sprague-Dawley rats (220–260 g) were administered indomethacin s.c. and killed 24 h later in order to examine hemorrhagic lesions that

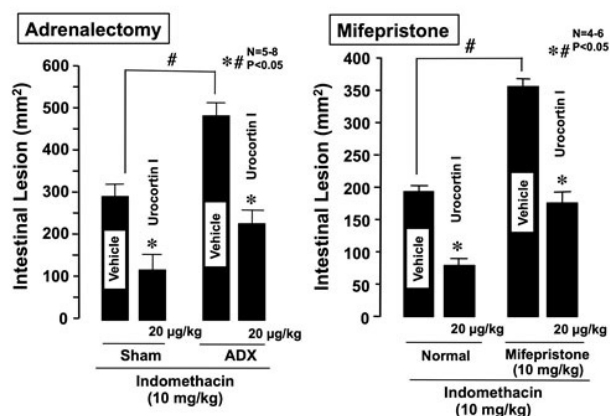


Fig. 1. The effects of urocortin I on indomethacin-induced enteropathy in rats with or without adrenalectomy (ADX) or mifepristone pretreatment. Animals were administered indomethacin (10 mg/kg) s. c. and killed 24 h later. Urocortin I (20 µg/kg) was given i. v. 10 min before the administration of indomethacin. A sham operation (Sham) or bilateral adrenalectomy (ADX) was performed one week before the experiment. Mifepristone (10 mg/kg) was given twice 30 min before and 6 h after the administration of indomethacin. Data are presented as the means $\pm$ SE of 4–8 rats. Significant difference at $P < 0.05$; * from vehicle in Sham or ADX or Normal; # from vehicle in Sham or Normal

developed in their small intestines. Urocortin I (20 µg/kg) was given i.v. 10 min before the administration of indomethacin. Bilateral adrenalectomy was performed a week before the experiment.

Results

Indomethacin (10 mg/kg) caused multiple hemorrhagic lesions in the small intestine, which were accompanied by a decrease in mucus secretion and increases in intestinal motility, enterobacterial invasion and iNOS expression (fig. 1, 2).

Adrenalectomy markedly increased ulcerogenic and motility responses caused by indomethacin, with further enhanced bacterial invasion and iNOS expression; severe lesions occurred at 3 mg/kg, a dose that did not induce any damage in sham-operated rats. This worsening effect was also observed after pretreatment with mifepristone (a glucocorticoid receptor antagonist). Urocortin I prevented indomethacin-induced enteropathy, and this effect was completely abrogated by the pretreatment with astressin 2B, a CRF2R antagonist, but was not affected by either adrenalectomy or mifepristone pretreatment.

Conclusion

The results of the present study confirmed that urocortin I, a CRF-related peptide, produced a pro-

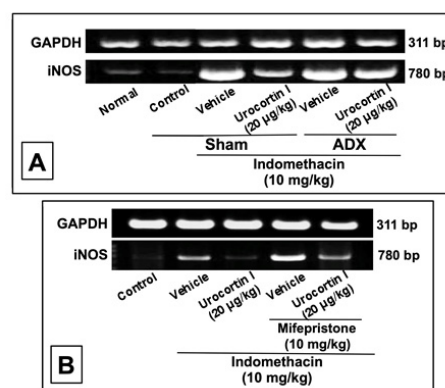


Fig. 2. Effects of urocortin I on the expression of iNOS mRNA in the small intestine of adrenalectomized rats (A) or mifepristone-treated rats (B). A sham operation (Sham) or bilateral adrenalectomy (ADX) was performed one week before the experiment. Animals were administered indomethacin (10 mg/kg) s. c. and killed 6 h later to examine the expression of iNOS mRNA by RT-PCR. Mifepristone (10 mg/kg) was administered p. o. 30 min before the administration of indomethacin. Urocortin I (20 µg/kg) was given i. v. 10 min before indomethacin. Note that indomethacin up-regulated the expression of iNOS in the small intestine of sham-operated, adrenalectomized and mifepristone-treated rats, whereas all these responses appeared to be mitigated by the prior administration of urocortin I

TECTIVE influence on the development of indomethacin-induced enteropathy, and this effect may be mediated by activation of peripheral CRF2R and functionally associated with suppression of intestinal hypermotility caused by indomethacin. The intestinal

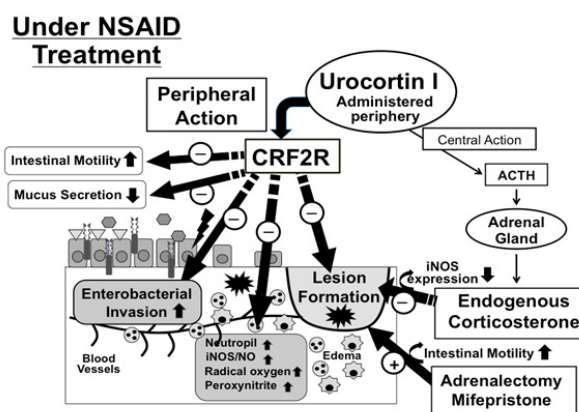


Fig. 3. Urocortin I demonstrates protective effects against NSAID (indomethacin)-induced enteropathy through activation of CRF2R. Adrenalectomy aggravates the intestinal ulcerogenic response to indomethacin, and the intestinal hypermotility response is a key element for this aggravation. Endogenous glucocorticoids play a role in intestinal mucosal defense against indomethacin-induced enteropathy but do not account for the protective effects caused by peripheral administration of urocortin I against these lesions

ulcerogenic response was worsened by adrenalectomy or pretreatment with mifepristone, suggesting that endogenous glucocorticoids play a role in the maintenance of intestinal mucosal integrity under adverse conditions such as NSAID treatment. Since urocortin I prevented NSAID-induced enteropathy in glucocorticoid-deficient rats, similar in normal animals, it may have exhibited such protective effects

without involvement of endogenous glucocorticoids released from the adrenal glands (fig. 3).

Furthermore, the present study strongly suggests that glucocorticoid deficiency enhanced the intestinal hypermotility response to indomethacin, which is an important functional event underlying aggravation of intestinal damage by adrenalectomy.

References

- Kubo, Y., Kumano, A., Kamei, K. et al. (2010) Urocortin prevents indomethacin-induced small intestinal lesions in rats through activation of CRF2 receptors. *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 55, no. 6, pp. 1570–1580. PMID: 19707872. DOI: 10.1007/s10620-009-0930-1 (In English)
- Martinez, V., Wang, L., Million, M. et al. (2004) Urocortins and the regulation of gastrointestinal motor function and visceral pain. *Peptides*, vol. 25, no. 10, pp. 1733–1744. PMID: 15476940. DOI: 10.1016/j.peptides.2004.05.025 (In English)
- Takeuchi, K., Abe, N., Kumano, A. (2016) Influence of adrenalectomy on protective effects of urocortin I, a corticotropin-releasing factor, against indomethacin-induced enteropathy in rats. *Current Neuropharmacology*, vol. 14, no. 8, pp. 866–875. DOI: 10.2174/1570159X14666160701020807 (In English)
- Takeuchi, K., Satoh, H. (2015) NSAID-induced small intestinal damage: Roles of various pathogenic factors. *Digestion*, vol. 91, no. 3, pp. 218–232. PMID: 25791157. DOI: 10.1159/000374106 (In English)

Effects of ketamine and stress on the neurotrophin receptors expression

E. V. Shaburova^{✉1,2}, D. A. Lanshakov^{1,2}

¹Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
10 Academician Lavrentyev Avenue, Novosibirsk 630090, Russia

²Novosibirsk State University, 1 Pirogova Str., Novosibirsk 630090, Russia

Authors

Elizaveta V. Shaburova,
SPIN: 4612-4997, Scopus AuthorID:
57209880329, ORCID: 0000-0001-
7795-2534, e-mail: sliza.nsk@gmail.com

Dmitriy A. Lanshakov,
SPIN: 7041-4461, Scopus AuthorID:
34872521600, ORCID: 0000-0002-
8482-1302, e-mail:
dmitriylanshakov@gmail.com

For citation: Shaburova, E. V.,
Lanshakov, D. A. (2020) Effects
of ketamine and stress
on the neurotrophin receptors
expression. *Integrative Physiology*,
vol. 1, no. 1, pp. 75–77. DOI:
10.33910/****-****-2020-1-1-75-77

Received 10 July 2019; reviewed
22 July 2019; accepted 31 July 2019.

Funding: Investigation of gene
expression was financially supported
by the RFBR grant no. 18-315-20028.
Investigation of ketamine effects was
financially supported by the RFBR
grant no. 18-315-00114.

Copyright: © The Authors (2020).
Published by Herzen State Pedagogical
University of Russia and Pavlov
Institute of Physiology RAS. Open
access under CC BY-NC License 4.0.

Abstract. Effects of a subanesthetic dose of ketamine and acute stress on the major (*p75*, *Trkb*, *Trkc*) and novel (*Sorcs1*, *Sorcs2*, *Sorcs3*) neurotrophin receptors and *Bdnf* gene expression in rats were examined. Adult male Wistar rats were treated with ketamine (15 mg/kg) or saline and half of each group was subjected to tail suspension test for 6 minutes, which was interpreted as an acute mild stressor. After an hour the total RNA was isolated from prefrontal cortex, midbrain and brainstem regions of each animal and mRNA expressions were analysed by real-time RT-PCR. The results showed different significant interactions between factors which were strongly dependent on the structure of the brain. Both subanesthetic doses of ketamine and acute mild stress caused changes in neurotrophin receptors and *Bdnf* gene expression in examined brain areas associated with depression. The obtained results allow to surmise that BDNF, SORCS1, SORCS3 and p75 receptors are involved in the ketamine-induced neuroplasticity and antidepressant activity.

Keywords: ketamine, neurotrophin, SorCS1, SorCS3, BDNF, p75.

Introduction & Aims

Ketamine, a glutamate NMDA (N-Methyl-D-Aspartate) receptor antagonist, exhibits a rapid antidepressant activity and is involved in structural and synaptic plasticity (Kavalali, Monteggia 2015), but the precise mechanism of these effects remains unknown. There are many pieces of evidence suggesting neurotrophins and their receptors, such as TRK (tyrosine kinases) and p75NTR (p75 neurotrophin receptor), are involved in ketamine effects (Pałucha-Poniewiera et al. 2019). Members of Vps10p family of sorting receptors SORCS1,

SORCS2 and SORCS3 (Sortilin Related VPS10 Domain Containing Receptors 1–3) are another neurotrophin receptors, but their functions are still poorly understood. Several researchers demonstrated an impact of these receptors on the maintenance of energy balance (Subkhangulova et al. 2018) and structural plasticity (Savas et al. 2015; Glerup et al. 2016; Christiansen et al. 2017). In this pilot study we investigated whether ketamine and stress affect mRNA expression of BDNF (brain-derived neurotrophic factor) and neurotrophin receptors SORCS1-3, p75, TRKB and TRKC in different brain areas associated with depression.

Methods

Adult male Wistar rats were injected intraperitoneally with ketamine (15 mg/kg body weight, i. p.) or saline. Two hours later half of the animals from each group were subjected to stress exposure (tail suspension test) for 6 minutes. One hour later tissue samples were harvested from different brain areas (prefrontal cortex, midbrain and stem) of all animals for total RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol chloroform extraction (Lanshakov et al. 2016). 5 µg of total RNA for each sample were reverse transcribed with RT mixtures containing 50 U M-MuLV (SybEnzyme), 1× RT-buffer, and 200 ng of oligo(dT)-primer in a total volume of 20 µl for 90 min at 42°C. The reaction was terminated by heating at 70°C for 15 min. The cDNA samples were then used for real-time PCR measurement with mRNA-specific primers and TaqMan probes for *Bdnf*, *Sorcs1-3*, *p75*, *Trkb*, *Trkc* and β -actin. Primers and TaqMan probes were designed to span specific exon boundaries with IDT Oligoanalyzer tool (<https://eu.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>), using mRNA sequences that were obtained from rat Ensemble genome database (Rnor_6.0; <https://www.ensembl.org/index.html>). Relative mRNA expression level of each gene was found by using $\Delta\Delta C_t$ method and normalized to β -actin. Statistical differences were determined by two-way ANOVA followed by Fisher's least significant difference *post hoc* analysis.

Results

We observed significant additive effect of both stress and ketamine on *Bdnf* mRNA expression in the cortex ($F(1, 18) = 6.273$, $p < 0.022$) and in the midbrain ($F(1, 17) = 4.581$, $p < 0.047$); however, in the brainstem, the *Bdnf* expression was increased only after stress ($F(1, 18) = 7.105$, $p < 0.016$). In the prefrontal cortex, ketamine ($p < 0.047$) and stress ($p < 0.009$) both suppressed expression of *Sorcs3* mRNA without summing of these effects. The levels of *Sorcs1* ($F(1, 18) = 4.437$, $p < 0.049$) and *p75* ($F(1, 18) = 5.586$, $p < 0.030$) mRNA in the midbrain decreased significantly after ketamine treatment (with stress and without stress, respectively). However, *p75* mRNA expression in the cortex decreased significantly after ketamine administration or tail suspension test, but not after their combination (ketamine X stress interaction: $F(1, 14) = 5.586$, $p < 0.022$). No significant effect of either ketamine or stress on the *Sorcs2*, *Trkb* and *Trkc* mRNA expression was observed.

Conclusion

We have found that acute stress and ketamine at subanesthetic doses have additive up-regulating

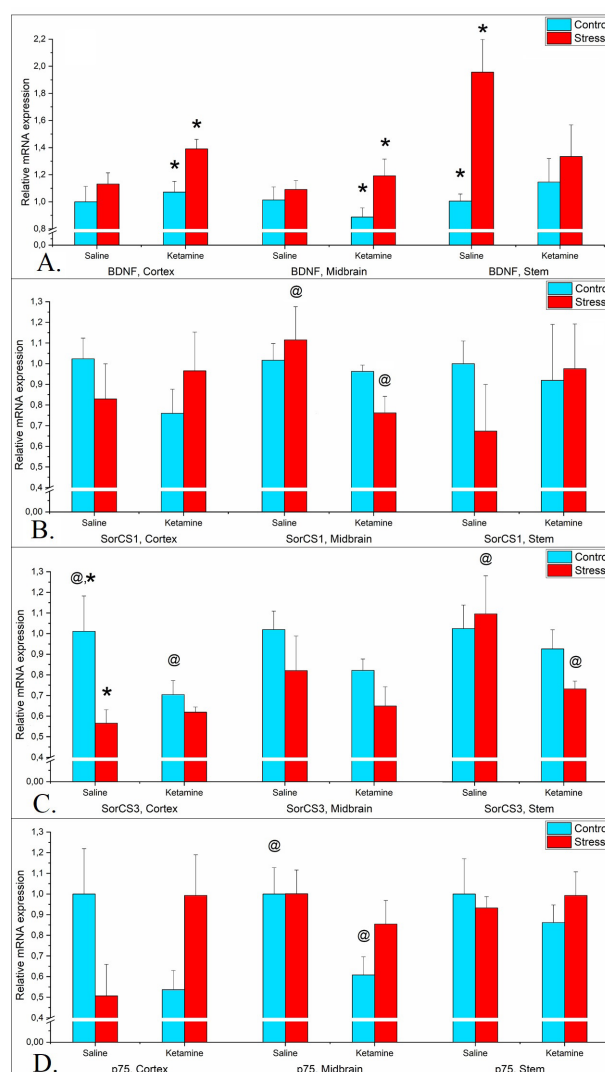


Fig. 1. Relative *Bdnf* (A), *Sorcs1* (B), *Sorcs3* (C), *p75* (D) mRNA expression (comparing to β -actin) in cortex, midbrain and stem. Data are presented as the means $\pm$ SE of 5–6 rats. Significant difference at $p < 0.05$; * between groups with or without stress exposure, @ between groups with saline or ketamine treatment

effects on *Bdnf* mRNA expression. This suggests the contribution of two different molecular pathways (NMDA receptors — PKD (Yu et al. 2016); GR receptors (Shishkina et al. 2015)), induced by these factors, in the genes expression increasing. However, in the brainstem region, we observed a different pattern of gene expression changes that can be explained by the small amount of NMDA receptors there (Monyer et al. 1994).

Furthermore, we observed additive down-regulating effects of both factors on the *Sorcs3* mRNA expression in the prefrontal cortex and in the midbrain, but not in stem, where only stress produced an impact. Levels of expression there might be mostly downregulated by signals from glutamatergic projections.

The impact of ketamine on *Sorcs1* mRNA expression decreasing was detected only in midbrain after stress exposure, which indicates the possible involvement of this protein in the mechanism of ketamine acute antidepressant effect.

In the prefrontal cortex, there were antagonistic relationships between stress exposure and ketamine treatment on *p75* mRNA expression, so ketamine negates the effect of acute stress. This could be interpreted as an action induced by stress expo-

sure molecular cascade which takes place only in the cortex after subanesthetic ketamine injection.

In conclusion, pretreatment with ketamine and acute stress both caused changes in neurotrophin receptors and *Bdnf* gene expression in examined brain areas. These findings suggest that SORCS1, SORCS3 and *p75* receptors are involved in the ketamine-induced neuroplasticity and antidepressant activity. Further research is needed to confirm these suggestions.

References

- Christiansen, G., Andersen, K., Riis, S. et al. (2017) The sorting receptor SorCS3 is a stronger regulator of glutamate receptor functions compared to GABAergic mechanisms in the hippocampus. *Hippocampus*, vol. 27, no. 3, pp. 235–248. PMID: 27935149. DOI: 10.1002/hipo.22689 (In English)
- Glerup, S., Bolcho, U., Mølgaard, S. et al. (2016) SorCS2 is required for BDNF-dependent plasticity in the hippocampus. *Molecular Psychiatry*, vol. 21, no. 12, pp. 1740–1751. PMID: 27457814. DOI: 10.1038/mp.2016.108 (In English)
- Kavalali, E., Monteggia, L. (2015) How does ketamine elicit a rapid antidepressant response? *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 20, pp. 35–39. PMID: 25462290. DOI: 10.1016/j.coph.2014.11.005 (In English)
- Lanshakov, D. A., Sukhareva, E. V., Kalinina, T. S., Dygalo, N. N. (2016) Dexamethasone-induced acute excitotoxic cell death in the developing brain. *Neurobiology of Disease*, vol. 91, pp. 1–9. PMID: 26873551. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.02.009 (In English)
- Monyer, H., Burnashev, N., Laurie, D. et al. (1994) Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron*, vol. 12, no. 3, pp. 529–540. PMID: 7512349. DOI: 10.1016/0896-6273(94)90210-0 (In English)
- Pałucha-Poniewiera, A., Podkowa, K., Pilc, A. (2019) Role of AMPA receptor stimulation and TrkB signaling in the antidepressant-like effect of ketamine co-administered with a group II mGlu receptor antagonist, LY341495, in the forced swim test in rats. *Behavioural Pharmacology*, vol. 30, no. 6, pp. 471–477. DOI: 10.1097/FBP.0000000000000471 (In English)
- Savas, J. N., Ribeiro, L. F., Wierda, K. D. et al. (2015) The sorting receptor SorCS1 regulates trafficking of neuroligin and AMPA receptors. *Neuron*, vol. 87, no. 4, pp. 764–780. PMID: 26291160. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.08.007 (In English)
- Shishkina, G. T., Kalinina, T. S., Bulygina, V. V. et al. (2015) Anti-apoptotic protein Bcl-xL expression in the midbrain raphe region is sensitive to stress and glucocorticoids. *PLOS ONE*, vol. 10, no. 12, article e0143978. PMID: 26624017. DOI: 10.1371/journal.pone.0143978 (In English)
- Subkhangulova, A., Malik, A. R., Hermey, G. et al. (2018) SORCS1 and SORCS3 control energy balance and orexigenic peptide production. *EMBO Reports*, vol. 19, no. 4, article e44810. PMID: 29440124. DOI: 10.15252/embr.201744810 (In English)
- Yu, X.-M., Fang, X.-Q., Jiang, X.-H. (2016) NMDA receptor internalization down-regulates NMDA receptor-mediated synaptic responses through the inhibition of remaining (non-internalized) surface NMDA receptors. *Neurotransmitter*, vol. 3, article e1192. (In English)