СОДЕРЖАНИЕ

Том 57, номер 3, 2021

Все статьи журнала по соглашению авторов с компанией Pleiades Publishing, Ltd. публикуются на английском языке в журнале «Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology» ISSN 0022-0930, ©Pleiades Publishing, Ltd.

ОБЗОРЫ

Молекулярные механизмы регуляции апоптоза нейтрофилов в норме и при патологии
Е. М. Носейкина, И. А. Щепеткин, Д. Н. Аточин 183

Сезонная динамика мелатонина, пролактина, половых гормонов и гормонов надпочечников у здоровых людей: мета-анализ
Н. В. Кузьменко, В. А. Цырлин, М. Г. Плисс 202

Гипоталамические механизмы регуляции старения
П. М. Маслюков, А. Д. Ноздрачев 224

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Продромальные характеристики эпилепсии у крыс с маятникообразными движениями
Т. А. Алехина, В. С. Плеканчук, Л. В. Осадчук 240

Сезонная динамика каротиноидов двустворчатого моллюска *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758) в Черном море
А. В. Бородина, П. А. Задорожный 250

Электрофизиологическое исследование осцилляторной активности мозга обезьян *Macaca mulatta*
А. К. Хараузов, М. А. Климук, В. А. Пономарев, Л. Е. Иванова, Д. Н. Подвигина 257

Contents

Vol. 57, No. 3, 2021

REVIEWS

Molecular Mechanisms for Regulation of Neutrophil Apoptosis at Normal and Pathological Conditions
E. M. Noseikina, I. A. Shchepetkin, D. N. Atochin 183

Seasonal Dynamics of Melatonin, Prolactin, Sex Hormones and Adrenal Hormones in Healthy People: a Meta-analysis
N. V. Kuzmenko, V. A. Tsyrlin, M. G. Pliss 202

Hypothalamic Mechanisms of the Regulation of Aging
P. M. Masliukov, A. D. Nozdrachev 224

EXPERIMENTAL ARTICLES

Prodromal Characteristics of Epilepsy in Rats with Pendulum Movements
T. A. Alekhina, V. S. Plekanchuk, L. V. Osadchuk 240

Seasonal Dynamics of Carotenoids in the Black Sea Bivalve Mollusk *Chamelea gallina* (linnaeus, 1758)
A. V. Borodina, P. A. Zadorozhny 250

Electrophysiological Study of Brain Rhythms in the Rhesus Monkey *Macaca mulatta*
A. K. Harauzov, M. A. Klimuk, V. A. Ponomarev, L. E. Ivanova, D. N. Podvigina 257

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 183–201

ОБЗОРЫ

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

© 2021 г. Е. М. Носейкина[1,*], И. А. Щепеткин[1,2,**], Д. Н. Аточин[1,3,***]

[1] Томский Политехнический университет, Томск, Россия

[2] Department of Microbiology and Immunology, Montana State University, Bozeman, MT, USA

[3] Cardiovascular Research Center, Cardiology Division, Massachusetts General Hospital, Charlestown, MA, USA

*e-mail: enoseykina@gmail.com

**e-mail: schepetkin@yahoo.com

***e-mail: atochin@cvrc.mgh.harvard.edu

Поступила в редакцию 27.10.2020 г.
После доработки 10.02.2021 г.
Принята к публикации 23.02.2021 г.

Нейтрофилы являются одними из основных клеток врожденного иммунитета и выполняют ключевую эффекторную и регуляторную функцию при развитии ответной воспалительной реакции организма. Апоптозные формы нейтрофилов имеют важное значение в регуляции интенсивности воспаления и восстановления тканевого гомеостаза. В настоящем обзоре обобщены современные данные о молекулярных механизмах модуляции апоптоза нейтрофилов основными регуляторными факторами воспалительной реакции – цитокинами, интегринами и структурными компонентами бактерий. Также проанализированы нарушения апоптоза нейтрофилов при стрессе, представлены молекулярные маркеры изменения продолжительности жизни нейтрофилов, наблюдаемые при различных заболеваниях и патологических состояниях, рассмотрена информация о фармакологических средствах модуляции апоптоза.

Ключевые слова: нейтрофилы, апоптоз, воспаление, стресс, врожденный иммунитет

Сокращения: БАЛ – бронхоальвеолярный лаваж, Г6ФК3 – глюкоза-6-фосфатазный комплекс типа 3, ГК – глюкокортикоиды, ЛП – липопротеины, ЛПС – липополисахарид, ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром, ПГ – пептидогликаны, АК2 – аденилат киназа 2, Akt – протеинкиназа B, ANCA – antineutrophil cytoplasmic antibody, Apaf-1 – apoptosis protease activating factor 1, Bcl-2 – B-cell lymphoma protein 2, CDK – cyclin-dependent kinase, cIAP – cellular inhibitor of apoptosis proteins, Cp-DNA – неметилированные Cp динуклеотиды, CR – цитокиновый рецептор, DAMP – danger-associated molecular patterns, ER-стресс – стресс эндоплазматического ретикулума, ERK – extracellular signal regulated kinase, FADD – Fas-associated death domain protein, Fas – антиген апоптоза, экспрессированный на поверхности клетки (CD95), FasL – Fas ligand, FcRγ – рецептор к Fc фрагменту Ig gamma, G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor, GILZ – glucocorticoid-induced leucine zipper, GM-CSF – granulocyte macrophage-colony stimulating factor, GPCR – G-protein-coupled receptor, HAX1 – hematopoietic cell-specific Lyn substrate 1-associated protein X-1, Hsp – heat shock proteins, IAP – inhibitor of apoptosis proteins, ICAM-1 – intercellular adhesion molecule 1, IFN – интерферон, IFNAR, -BR, -GR – receptor for interferon alpha,- beta,- gamma, IGF-1– insulin-like growth factor-1, IκBα – inhibitor of nuclear factor-κB alpha, IL – интерлейкин, IRAK – IL-1 receptor-associated kinase, JAK – Janus kinase, Mac-1 – macrophage-1 antigen, MAPK – mitogen-activated protein kinase, MIF – фактор ингибирования миграции макрофагов, MyD88 – myeloid differentiation primary-response protein 88, NF-κB – nuclear factor “kappa-light-chain-enhancer” of activated B-cells, NOD – nucleotide-binding oligomerization domain, PAMP – pathogen-associated molecular patterns, PDE-4 – phosphodiesterase-4, PI3-K – phosphatidylinositol 3-kinase, PRR – pattern recognition receptors, Pyk2 – pyruvate kinase 2, RIP – receptor-interacting protein, ROS – reactive oxygen species, SAA – serum amyloid A, SHP – Src homology domain 2 (SH2)-containing tyrosine phosphatase, Smac – second mitochondria-derived activator of caspase, Src – Rous sarcoma virus proto-oncogene, STAT – signal transducer and activator of transcription, Syk – spleen tyrosine kinase, TLR – Toll-like receptor, TNF – tumor necrosis factor, TNF-R – TNF receptor, TRADD – TNF receptor-associated death domain, TRAF – TNF-receptor-associated factor, TRAIL – TNF-related apoptosis-inducing ligand, VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule -1, XIAP – X-linked inhibitor of apoptosis protein

DOI: 10.31857/S0044452921030086

ВВЕДЕНИЕ

В ходе эволюционного развития системы врожденного иммунитета человека сформировался механизм распознавания сигналов потенциального повреждения структурных компонентов тканей, представленный эволюционно консервативными паттерн-распознающими рецепторами (PRR) иммунокомпетентных клеток. Способность этих рецепторов распознавать молекулярные структуры различных патогенов (PAMP), а также сигналы опасности в форме DAMP, высвобождающиеся из разрушенного экстраклеточного матрикса и распадающихся клеток организма, тесно связана с формированием острого воспалительного ответа в очаге инфицирования или повреждения [1–3]. В отличие от других гранулярных лейкоцитов, на нейтрофилах представлено огромное количество разнообразных PRR [2], и именно эти эффекторные клетки одними из первых реагируют на сигнал опасности, мигрируют из циркуляторного русла к очагу повреждения, идентифицируют природу раздражителя и выбирают оптимальные способы его нейтрализации – генерацию активных форм кислорода (ROS), дегрануляцию, фагоцитоз или формирование экстраклеточных ловушек (нетоз) [1]. На каждом этапе развивающейся при этом воспалительной реакции нейтрофилы играют одну из ключевых ролей как эффекторные и регуляторные участники процесса, а момент и форма их гибели имеют критическое значение для полноценного завершения процесса воспаления и восстановления гомеостаза [1, 4].

Апоптоз является основной формой гибели нейтрофилов, а механизм его индукции не является уникальным и сохраняет основные черты, присущие всем клеткам организма [5]. Так, связывание экстраклеточных лигандов FASL, TNF или TRAIL с соответствующими мембранными “рецепторами смерти” (FAS, TNF-R1, TRAIL-R1/2) активирует цитоплазматические “домены смерти” (FADD или FADD/ TRADD) и запускает многоступенчатый каскад внутриклеточных молекулярных взаимодействий, ключевая роль в которых отводится каспазам-8 и -3, протеинкиназам семейства MAPK и регуляторным белкам семейства Bcl-2, одни из которых проявляют проапоптозные свойства (Bad, Bim, Bax, Bid, Bak), а другие обладают защитным эффектом (Mcl-1, A1, Bcl-X_L) [6–8] (рис. 1).

Внутриклеточные триггеры индуцируют пути апоптоза, опосредуемые эндоплазматическим ретикулумом или митохондриями [7–10]. Апоптоз, опосредуемый митохондриями, зависит от доминирования в цитоплазме проапоптозных белков семейства Bcl-2, функционального состояния митохондриальных мембран и активности каспазы-9 [6, 8, 9]. При апоптозе, опосредуемом эндоплазматическим ретикулумом, основная роль отводится так называемой “реакции несвернутых белков”, индуцирующей независимый от каспазного механизма специфический путь программируемой гибели нейтрофилов [10]. Подобно другим фагоцитирующим клеткам, нейтрофилы способны реализовать программу апоптоза, индуцируемого фагоцитозом [7] (рис. 1). Апоптозные формы нейтрофилов теряют функциональную активность, приобретают специфические морфологические характеристики и выводятся из циркуляции фагоцитирующими клетками костного мозга, легких или печени [1, 11].

Стресс представляет собой высококонсервативный биологический ответ на сигнал тревоги или угрозы, связанный с эволюционно древней системой врожденного иммунитета и имеющий решающее значение для выживания организма [12]. Ассоциированные с реализацией программы защиты разнонаправленные изменения продолжительности жизни нейтрофилов отмечаются как при воспалении, так и при стрессе. Нарушения апоптоза нейтрофилов как фактора регуляции их функциональной активности имеют патогенетическое значение при формировании хронических заболеваний различной этиологии.

РЕГУЛЯЦИЯ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОСТРЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ

Продолжительность жизни нейтрофилов в физиологических условиях ограничена 12–18 часами в циркуляторном русле и 1–4 днями в тканях [1, 8, 11, 13, 14]. При развитии воспалительной реакции, характеризующейся активацией нейтрофильного звена, этот показатель может увеличиться в несколько раз, что позволяет иммунной системе с наибольшей эффективностью использовать функциональный потенциал нейтрофилов [1]. После завершения острой фазы воспаления истощенные нейтрофилы подвергаются апоптозу, а поглощение апоптозных телец макрофагами непосредственно в очаге повреждения служит сигналом переключения провоспалительной программы на антивоспалительную с последующим восстановлением тканевого гомеостаза [4, 15]. Продолжительность жизни нейтрофилов в данном случае имеет критическое значение и модулируется комплексом различных сигналов, включая факторы метаболического состояния клетки и экстраклеточного пространства [9, 16, 17].

Показано, что молекулярные механизмы супрессии апоптоза активируются уже в процессе проникновения нейтрофилов в очаг повреждения. Отмечено, что трансэпителиальная миграция этих клеток сопровождается снижением экспрессии прокаспаз -3, -6, -7 и -8 и мРНК прокаспаз-3 и -8 [18], а непосредственный контакт нейтрофилов с эндотелиальным монослоем *in vitro* тормозит развитие как спонтанного, так и Fas- или TNFR-опосредованного апоптоза [19]. Сигнал подавления

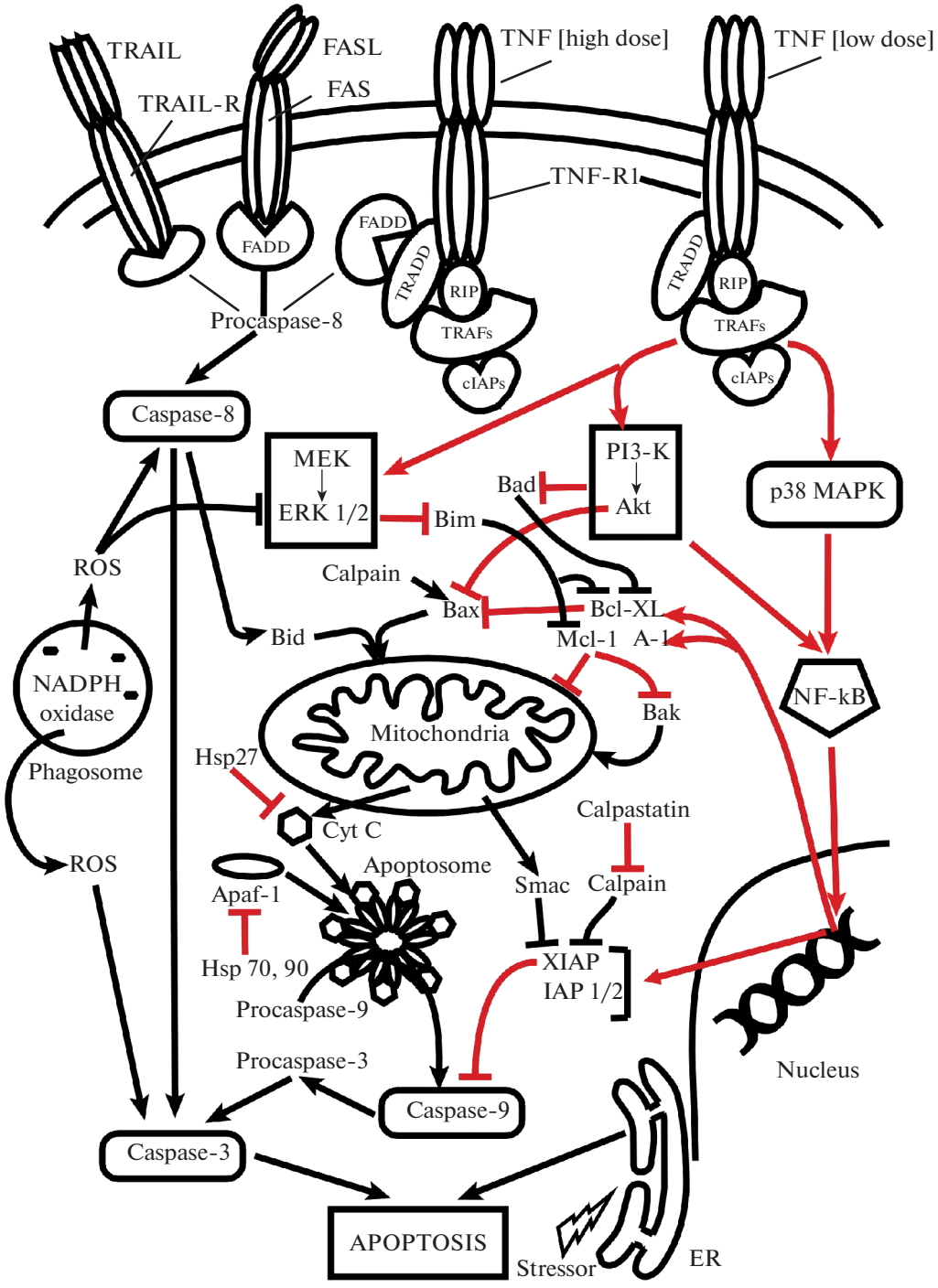


Рис. 1. Молекулярная регуляция апоптоза нейтрофилов, опосредованного “рецепторами смерти” (FAS, TNF-R1, TRAILR), фагоцитозом и стрессом эндоплазматического ретикулума. Пути супрессии апоптоза обозначены красным цветом.

апоптоза при трансэндотелиальной миграции в очаг воспаления нейтрофилы получают посредством интегринового взаимодействия, а дополнительными стимулами продления жизни нейтрофилов в острую фазу воспаления являются провоспалительные цитокины, факторы роста, PAMP, DAMP и другие молекулярные регуляторы, каждый из которых четко выполняет свою роль [1, 2, 8]. При сравнении нейтрофилов БАЛ больных тяжелой формой пневмонии с нейтрофилами циркулирующей крови выявлено количественное преобладание антиапоптозных белков Bcl-X_L и A1 семей-

ства Bcl-2 в нейтрофилах БАЛ [20]. На этапе разрешения воспаления значительный вклад в модуляцию апоптоза нейтрофилов вносят цитокины, обладающие антивоспалительными свойствами [1, 17].

Интегрины как факторы регуляции апоптоза

Интегрины являются трансмембранными гетеродимерными рецепторами для молекул адгезии и белков экстраклеточного матрикса. Различные α и β субъединицы экспрессируются на поверхности клетки, формируя интегрины с различной специфичностью для лигандов. На цитоплазматической мембране нейтрофилов экспрессированы $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_V\beta_3$ и $\alpha_9\beta_1$ интегрины [21] с преобладанием $\alpha_M\beta_2$ или Mac-1 (CD11b/CD18, ITAM антиген), принадлежащего субсемейству β_2 интегринов [22, 23]. Активация Mac-1 молекулами межклеточной адгезии ICAM-1, представленными на поверхности эндотелиоцитов капиллярного русла, вносит заметный вклад в повышение жизнеспособности нейтрофилов в процессе их трансэндотелиальной миграции в очаг воспаления [23]. Связывание Mac-1 с такими протеинами азурофильных гранул нейтрофилов, как фибриноген, плазминоген и миелопероксидаза, также сопровождается задержкой спонтанного апоптоза [22, 24, 25]. Показано, что костимулирующий сигнал с β_2-интегрина необходим для активации транскрипционной активности NF-κB при экспозиции нейтрофилов с воспалительными цитокинами IL-8 и GM-CSF [26]. Механизм передачи сигнала с лигированных интегринов связан с активацией тирозинкиназ из семейства Src, Syk и киназ фокальной адгезии, в частности Pyk2 [27]. В нейтрофилах киназы Syk и Pyk2 модулируют активность киназ Akt и p38 MAPK [28]. Взаимодействие лиганда с Mac-1 вызывает его кластеризацию, активацию Akt и ERK 1/2, а также факторов, блокирующих секвестрацию митохондрий [24, 29]. Кроме того, показано, что растворимый фибриноген способствует транслокации NF-κB в ядро, активируя цитоплазматический ингибитор деградации этого фактора [29]. Выявлено, что для активации фибриногеном или плазминогеном путей выживания, опосредованных ERK1/2 и Akt, необходимо привлечение обеих субъединиц интегрина $\alpha_M\beta_2$ [24]. При связывании Mac-1 с миелопероксидазой, помимо активации протеинкиназ ERK1/2 и Akt, отмечается накопление в цитоплазме антиапоптозного фактора Mcl-1 семейства Bcl-2, предотвращение дисфункции митохондрий и поддержание эффекторной каспазы-3 в неактивном состоянии [25]. Тем не менее показано, что тиогликолят-индуцированные нейтрофилы, выделенные от мышей, дефицитных по гену CD11b (CD11b $^{-/-}$), имеют замедленный апоптоз [30], что предполагает существование других интегрин-опосредованных путей регуляции этого процесса. Так, в настоящее время известно, что связывание интегрина $\alpha_9\beta_1$, принадлежащего к субсемейству β_1, васкулярными молекулами адгезии VCAM-1 (CD106) приводит к задержке не только спонтанного, но и Fas-индуцированного апоптоза нейтрофилов, и сопровождается стимуляцией PI3-K опосредованного пути выживания и активацией фактора транскрипции NF-κB [21].

Вовлечение нейтрофилов в β_2-интегриновое взаимодействие может не только подавлять, но и активировать апоптоз нейтрофилов. Установлено, что продолжительность жизни клеток в данном случае зависит от функциональной активности интегринового рецептора и костимулирующего действия отдельных цитокинов. Связывание β_2 интегриновой субъединицы с лигандами при одновременном действии таких проапоптозных факторов, как FasL, TNF или ультрафиолетовое излучение, может ускорять апоптоз нейтрофилов [31]. Усиление фибронектином TNFR - опосредованного апоптоза нейтрофилов зависит от фосфорилирования протеина Ly-GDI, являющегося регулятором ГТФаз [32]. Возможность связывания Mac-1 с компонентом комплемента iC3b или Fc рецептором обусловливает взаимодействие данного интегрина с опсонизированными бактериями, сопровождающееся их фагоцитозом [33], и, как следствие, индукцией апоптоза [7]. Экспериментально установлено, что антитела к Mac-1 блокируют апоптоз, опосредованный фагоцитозом опсонизированных частиц [30]. Интегрины участвуют в межклеточном взаимодействии нейтрофилов и макрофагов. Это взаимодействие может приводить как к активации апоптоза нейтрофилов, так и к их последующему фагоцитозу макрофагами [34, 35]. Таким образом, посредством интегриновых рецепторов апоптоз нейтрофилов может модулироваться различными лигандами, как экспрессированными на поверхности соседних клеток, так и находящимися в экстраклеточном матриксе или в растворенном состоянии.

Цитокины как факторы регуляции апоптоза

Помимо CR семейства TNF (FAS, TNF-R1 и TRAIL-R1/2), связанных с “доменами смерти” FADD и FADD/TRADD, на цитоплазматической мембране нейтрофилов экспрессируются многочисленные рецепторы, активация которых не затрагивает “домены смерти”, однако оказывает разнонаправленное влияние на различные типы апоптоза на этапе трансдукции нисходящего внутриклеточного сигнала к эффекторной каспазе-3 – ключевой “молекуле смерти” [1, 36].

Многие цитокины и факторы роста, играющие важную роль в формировании воспалительного ответа, могут разнонаправленно изменять продолжи-

тельность жизни нейтрофилов. Показано, что IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, IL-15, IL-18, IL-32γ, TNF, IFNγ, IFNα, IFNβ, GM-CSF, G-CSF, MIF и IGF-1 способны замедлять процесс апоптоза, оказывая провоспалительное действие при развитии острой фазы воспаления [5, 11, 20, 36–45]. Из этих факторов TNF и IL-6 обладают бифункциональными свойствами, т.е. могут при определенных условиях активировать апоптоз этих клеток [6, 8, 16, 41].

TNF является лигандом CR семейства TNF, молекулярный комплекс которого индуцирует как проапоптозный путь, опосредуемый каспазой-8 и связанный исключительно с TNF-R1, так и антиапоптозный, опосредуемый обоими типами рецепторов TNF-R1 и TNF-R2 [16, 36]. Модуляция выживаемости нейтрофилов посредством TNF осуществляется различными факторами [46], в конечном итоге сдвигающими баланс проапоптозных и антиапоптозных сигналов в ту или иную сторону, однако в большей степени зависит от концентрации TNF в среде инкубации и напряжения кислорода в экстраклеточном пространстве [8, 16].

Действие большинства цитокинов опосредуется CR I и II типов. Одними из наиболее изученных лигандов CR типа I являются факторы роста G-CSF и GM-CSF [1, 11, 36, 47]. Продолжительность жизни нейтрофилов, выделенных из крови добровольцев после курсового введения рекомбинантного G-CSF человека (10 мкг/кг подкожно, ежедневно, однократно, в течение 7 дней), была значительно выше, чем в контрольной группе [48]. Как G-CSF, так и GM-CSF подавляют Fas-опосредованный апоптоз нейтрофилов человека [49, 50], однако G-CSF не оказывает влияния на нейтрофилы мышей [51].

Предполагается, что основной механизм антиапоптозного действия цитокинов на нейтрофилы заключается в изменении соотношения экспрессии белков семейства Bcl-2 в сторону защитных белков. Так, GM-CSF, G-CSF, IL-3, IL-6, IL-15 и IFN-γ снижают экспрессию Bax [5, 52]. GM-CSF и TNF вызывают PI3-K-зависимое фосфорилирование и цитозольную транслокацию Bad [53]. G-CSF и GM-CSF поддерживают экспрессию белков выживания A1 и Mcl-1 [20, 47], но не влияют на уровни экспрессии других белков семейства Bcl-2 (Bcl-X_L, Bax, Bcl-w) как в нейтрофилах мыши, так и человека [47, 51]. Следует отметить, что данные об индукции экспрессии Bim, Bax и Bcl-X_L факторами роста G-CSF и GM-CSF противоречивы [20, 47, 51], а неоднозначность результатов, по-видимому, связана с такими методическими особенностями проведения исследований *in vitro*, как доза и продолжительность экспозиции исследуемых факторов, а также со степенью очистки популяции нейтрофилов.

Антиапоптозные эффекты провоспалительных цитокинов на нейтрофилы могут быть опосредованы не только балансом белков семейства Bcl-2, но и функциональной активностью ключевых протеинкиназных каскадов. CR типа I (IL-4R, -6R, -12R, -15R, G-CSFR, GM-CSFR) и CR типа II (IFNAR, IFNBR, IFNGR, IL-10R) конститутивно связаны с протеинкиназой JAK, субстратом для которой является активатор транскрипции протеинов STAT. Связывание лиганда с этим типом рецепторов индуцирует активацию протеинкиназных каскадов по сигнальному пути JAK-STAT, регулирующему многие цитологические процессы, в том числе и апоптоз [36]. Среди протеинов семейства JAK ключевая роль в трансдукции антиапоптозного сигнала принадлежит JAK2 [54], инициирующей сигнальный путь JAK2→STATs. Активация данного пути показана для многих лигандов CR I и II типов, в том числе G-CSF, GM-CSF [54, 55], IL-15 [56], IFNα и IFNγ [36, 57]. Особенности путей активации конкретного типа CR, по-видимому, определяются комбинацией рецептор-специфических вариантов JAK и STAT, обусловленной широким спектром их молекулярного разнообразия. Важную дополнительную регуляторную роль в пострецепторных механизмах передачи сигнала выполняют протеинкиназа PI3-K и ее субстрат Akt, ядерный фактор транскрипции NF-κB, белки семейства Bcl-2, ингибиторы апоптоза семейства IAP и ряд других вспомогательных энзимов [6, 36]. Так, например, при обработке нейтрофилов фактором G-CSF активация сигнального пути G-CSFR → JAK2 → STAT3/5 сопровождается увеличением экспрессии cIAP2 [55]. GM-CSF вызывает задержку апоптоза через сигнальные пути, опосредованные протеинкиназами ERK и PI3-K/Akt [45], но не p38 MAPK [58]. В то же время другой лиганд CR типа I, IL-15, активирует не только киназы JAK2 и ERK, но и p38 MAPK, что также приводит к задержке апоптоза [56].

Среди лигандов CR типа II наибольший интерес представляют IFNα/β и IFNγ. Пролонгирование выживаемости нейтрофилов посредством IFNα и IFNγ связано с увеличением экспрессии cIAP2, но не cIAP1, Mcl-1 и A1 [57]. Антиапоптозное действие IFNβ на нейтрофилы обусловлено активацией протеинкиназ PI3-K, Cδ и транслокацией NF-κB в ядро [59, 60]. Показано также, что IFNγ ингибирует Fas-опосредованный апоптоз нейтрофилов здорового человека [44].

Антиапоптозным потенциалом обладают также некоторые интерлейкины, активирующие другие типы цитокиновых рецепторов. Прежде всего к ним относятся IL-1α /β и IL-18, являющиеся лигандами суперсемейства IL-1R/TLR [36] и принимающие активное участие в регуляции воспалительного процесса. В отличие от CR I и II типов, при активации рецепторного комплекса IL-1R/TLR сигнал инициируется белком-адаптером MyD88 и киназами семейства IRAK с дальнейшей трансдукцией на фактор транскрипции NF-κB и киназы семейства MAPK [36]. Выявлено, что IL-1β оказывает супрессирующее действие как на спонтанный

[38], так и на Fas-индуцированный апоптоз [50]. Инкубация очищенной популяции нейтрофилов крови здорового человека с IL-18 также сопровождается супрессией апоптоза, а механизм увеличения продолжительности жизни нейтрофилов связан с увеличением активности фактора выживания A1, но не Mcl-1, и опосредуется PI3-K и ERK, но не p38MAPK, киназными путями [61].

Некоторые протеины, обладающие свойствами воспалительных цитокинов, являются лигандами рецепторов, не относящихся к цитокиновому типу. Один из них представлен гормоном роста IGF-1. Выявлено, что IGF-1 вызывает выраженную задержку как спонтанного, так и FAS-индуцированного апоптоза нейтрофилов здорового человека в условиях *in vitro* [44], причем механизм действия IGF-1 не затрагивает экспрессию Fas и активность каспазы-8, но связан с PI3-K и ингибирующим, но не блокирующим, эффектом на деполяризацию митохондриальных мембран. При этом эффективность действия IGF-1 сравнима с эффектом GM-CSF и IFN-γ, которые почти на 50% ингибируют Fas-опосредуемый апоптоз [44].

Хорошо изученный цитокин IL-8, функционально принадлежащий к группе хемокинов и являющийся лигандом хеморецептора CXCR семейства GPCR [36], не только усиливает внедрение нейтрофилов в очаг воспаления, но и пролонгирует их выживаемость [6]. В условиях культивирования нейтрофилов человека выявлено, что IL-8 задерживает развитие как спонтанного, так и Fas- или TNF-индуцированного апоптоза [6, 45, 50], а сигнальные пути выживания опосредованы ERK/Akt [45]. Другим, не менее важным цитокином плейотропного действия, обладающим хемокино-подобной активностью и антиапоптозным эффектом, является MIF. Показано, что механизм влияния MIF на апоптоз нейтрофилов человека связан с предотвращением высвобождения из митохондрий цитохрома C и Smac, участвующих в активации эффекторной каспазы-3, а также с поддержанием в неактивном состоянии проапоптозных факторов Bid и Bax [40].

Среди цитокинов, высвобождающихся в процессе развития фазы разрешения воспалительного ответа, интерес представляют IL-4 и IL-10 как наиболее изученные с точки зрения влияния на апоптоз [1, 17]. В эту фазу нейтрофилы вступают уже в активированном состоянии, а продолжительность их жизни увеличивается комплексом модуляторов. Показано, что IL-10 отменяет супрессию спонтанного апоптоза, опосредованную провоспалительными факторами TNF, GM-CSF, G-CSF, IFNγ или ЛПС в условиях *in vitro*, но при этом не оказывает влияние на выживаемость непримированных нейтрофилов [62, 63]. Изучая молекулярный механизм реверсии задержки апоптоза нейтрофилов, C. Ward и соавт. делают вывод, что трансдукция IL-10-опосредованного сигнала ассоциируется с подавлением активности ERK, однако отличается от путей передачи сигнала к ERK от рецепторных комплексов, активируемых GM-CSF или TNF [64]. Проапоптозный эффект также продемонстрирован при изучении влияния IL-4 на активированные ЛПС и культивируемые в условиях гипоксии нейтрофилы человека [17]. IL-10 и IL-4 являются лигандами IL-10R и IL-4R, и большинство исследователей указывают на важность Jak1/STAT3 взаимодействий в проведении опосредованного данными интерлейкинами сигнала [1, 17, 65].

Модуляция апоптоза компонентами бактерий

Среди нескольких типов PRR одними из наиболее изученных являются трансмембранные TLR, принадлежащие семейству IL-1R/TLR рецепторов и имеющие первостепенное значение в распознавании различных структурных компонентов микроорганизмов с последующей активацией выраженной ответной воспалительной реакции [36, 66]. Посредством связывания с TLR компоненты микроорганизмов могут оказывать влияние на апоптоз нейтрофилов и при отсутствии прямого инфицирования клетки. В нейтрофилах человека представлены все десять известных типов TLR, исключая TLR3 [7, 36], три из которых находятся во внутриклеточных компартментах (TLR-7, -8, -9), а остальные экспрессированы на цитоплазматической мембране [66]. Наиболее изученными PAMP бактериальной природы считаются мембранные ЛПС, ЛП, ПГ и липотейхоевые кислоты, обладающие антиапоптозным потенциалом различной степени выраженности [6, 7, 22, 61, 64, 67, 68]. Экспериментально продемонстрировано, что ЛПС, являющийся компонентом наружной мембраны большинства грамотрицательных бактерий и одновременно лигандом TLR4, вызывает супрессию спонтанного апоптоза нейтрофилов в условиях *in vitro* и *in vivo* [6, 22, 61, 64, 68], а выраженность эффекта сравнима с действием таких медиаторов воспаления, как IL-18, G-CSF или GM-CSF [6, 61]. Экспериментально продемонстрировано, что после введения ЛПС в нейтрофилах легких крыс повышаются активности PI3-K, Akt, p38 MAPK и ERK, транскрипционная активность NF-κB, а также усиливается экспрессия фактора выживания Mcl-1 [69].

ЛП и ПГ клеточных мембран бактерий являются основными агонистами TLR2, формирующими сигнал в комплексе с TLR1 или TLR6 [36, 67]. Активация TLR2, как правило, сопровождается супрессией апоптоза различной степени выраженности [22, 68]. Так, например, ЛП грамотрицательной *F. tularensis* или ПГ грамположительного *S. aureus*, связываясь с TLR2, способны значительно увеличивать продолжительность жизни нейтрофилов, модулируя пути апоптоза [67, 68]. В настоящее вре-

мя появились данные, указывающие на взаимодействие бактериальных ПГ не только с рецепторами TLR2 типа, но и с внутриклеточными PRR семейства NOD. В частности, показано, что агонист NOD2 рецептора мурамилдипептид грамотрицательных бактерий активирует классические провоспалительные пути выживания нейтрофилов, опосредованные активацией NF-κB и MAPK [70].

Бактериальная ДНК, высвобождающаяся при лизисе или пролиферации бактерий, имеет все иммунологические свойства PAMP, а короткие последовательности Cp-DNA селективно распознаются TLR9 рецепторами нейтрофилов. Активация TLR9 бактериальной ДНК стимулирует функциональную активность нейтрофилов, что проявляется в индукции экспрессии хемокинов и интегрина Mac-1, регулировании молекул адгезии, усилении фагоцитарной активности и супрессии спонтанного апоптоза [66], что в итоге способствует поддержанию острой фазы ответной воспалительной реакции. Молекулярные механизмы антиапоптозного сигнала агонистов TLR на нейтрофилы опосредованы белком-адаптером MyD88 [66, 71] и ассоциированы с активацией киназных путей PI3-K/Akt и MEK/ERK, запуском NF-κB-опосредованной транскрипции генов провоспалительных цитокинов, увеличением экспрессии факторов выживания A1 и Mcl-1, а также снижением активности эффекторной каспазы-3 [8, 61, 64, 66, 68]. Менее изучен механизм подавления FasL-индуцированного апоптоза лигандами TLR. Известно, что в нейтрофилах мыши цитопротективный эффект, обусловленный взаимодействием с TLR1/2, TLR2/6 или TLR4, связан с ингибированием расщепления каспазы-8 и не затрагивает баланс белков семейства Bcl-2 [71].

Следует также отметить, что в дополнение к антиапоптозному действию структурных компонентов бактерий, токсины некоторых микроорганизмов, например, веротоксин *E. coli*, Шига токсин и фенол-растворимые модулины, также способны пролонгировать продолжительность жизни нейтрофилов [11], тем самым эффективно увеличивая их количество во время развития острой фазы воспаления.

НАРУШЕНИЯ АПОПТОЗА ПРИ ПАТОЛОГИИ

В основе патогенеза большинства заболеваний лежит воспаление, представляющее собой ответную реакцию иммунологического характера, направленную на локализацию и нейтрализацию повреждающего агента [72]. В большинстве случаев острые воспалительные ответы разрешаются путем удаления тканевого раздражителя и постепенного снижения содержания лейкоцитов в очаге воспаления в результате прекращения их рекрутирования из системы циркуляции, а также вследствие их апоптоза с последующим фагоцитозом и восстановлением гомеостаза в очаге повреждения. Нарушение регуляции апоптоза при развитии воспалительных реакций ассоциируется с нарушением алгоритма воспалительного ответа, способствует хронизации патологического процесса и развитию заболеваний [4, 7, 73].

Так, известно, что при воспалениях инфекционной этиологии увеличение продолжительности жизни активированных нейтрофилов сопровождается избыточным локальным высвобождением комплекса цитотоксических бактерицидных субстанций и регуляторных цитокинов, однако, в случае выраженного воспалительного процесса продукция цитокинов часто приобретает неконтролируемый характер и вносит существенный вклад в формирование системной воспалительной реакции [72]. В то же время несвоевременная акселерация апоптоза при острых инфекционных заболеваниях сопровождается незавершенным фагоцитозом и часто провоцирует развитие вторичного некроза, связанного с чрезмерным локальным повреждающим действием продуктов клеточного распада на ткани [7, 11]. Подобные нарушения облегчают ускользание микроорганизмов от лизиса и благоприятствуют диссеминации в тканях хозяина [7, 67], что способствует поддержанию рецидивирующих воспалительных процессов и развитию хронической патологии. Например, персистирующий в организме репираторный синцитиальный вирус является причиной обостряющихся бронхиолитов, связанных с патогенезом бронхиальной астмы [74].

Некоторые исследователи предполагают, что при воспалительных процессах в механизме ускорения апоптоза нейтрофилов человека важную роль играет увеличение экспрессии Fas. Показано, что у пациентов, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями и имеющих клинические признаки интоксикации, отмечается увеличение экспрессии нейтрофилами Fas и повышается количество апоптозных форм нейтрофилов [75].

Разнонаправленные нарушения процесса апоптоза нейтрофилов наблюдаются не только при развитии инфекционных процессов, но и при многих неинфекционных заболеваниях и патологических состояниях [5, 15, 40, 76–105] (табл. 1). Следует отметить, что некоторые молекулярные регуляторы апоптоза нейтрофилов, такие как CD69, SAA и SHP, у здоровых людей практически не выявляются, однако их количество резко возрастает при некоторых заболеваниях. При этом повышенная экспрессия CD69 и SAA ассоциируется с супрессией апоптоза [91, 96, 97], а SHP, напротив, с его активацией [76, 46] (табл. 1). Локальные повреждения тканей, связанные с острым нарушением кровообращения или с травмами, являются причиной развития стерильных воспалений, сопровождающихся высвобождением DAMP и нейтрофильной ин-

фильтрацией. DAMP-опосредованное увеличение продолжительности активного функционирования нейтрофилов при стерильном воспалении может привести к повреждению тканей и органов, выступая дополнительным патогенетическим фактором заболевания [1]. Так, опираясь на экспериментальные данные, некоторые исследователи полагают, что при острой сердечной недостаточности нейтрофилы способны оказывать прямое повреждающее действие на кардиомиоциты в очаге ишемии, расширяя зону инфаркта посредством активации интегриновых взаимодействий [3]. У пациентов с хронической сердечной недостаточностью воспаление миокарда также может быть частично связано со снижением скорости спонтанного апоптоза нейтрофилов [106]. Подобный механизм модуляции апоптоза также является одним из патофизиологических факторов формирования так называемого синдрома полиорганной дисфункции при эндогенной интоксикации различного генеза [62]. Критерием выраженности эндогенной интоксикации может служить количественная оценка содержания апоптозных форм нейтрофилов в периферической крови больного [75]. При заболеваниях, сопровождаемых уремией, обычно наблюдается ускорение апоптоза нейтрофилов [81, 90], однако при состояниях, когда интоксикация организма достигает значительной интенсивности, например, при сепсисе или ожоговой травме, отмечается увеличение продолжительности жизни нейтрофилов [78, 84, 85, 87, 92].

Антимикробная активность нейтрофилов в сочетании с наследственными особенностями функционирования иммунной системы хозяина вносит заметный вклад в развитие широко распространенных заболеваний аутоиммунного генеза. Генетически обусловленное снижение продукции ROS NADPH-оксидазным комплексом нейтрофилов связано с ослаблением их функциональной активности и нарушением апоптоза, что значительно увеличивает риск развития системной красной волчанки, ревматоидного артрита, хронических воспалительных заболеваний кишечника [107–110], а также приводит к серьезным осложнениям инфекционного характера у больных хроническим гранулематозом [111]. У больных системной красной волчанкой обнаружено увеличение количества апоптозных форм нейтрофилов в крови, и этот показатель коррелирует с тяжестью заболевания [112]. При активном ANCA-ассоциированном васкулите примированные нейтрофилы также отличаются ускоренным апоптозом [113]. В то же время ANCA-ассоциированный васкулит в стадии ремиссии, а также ревматоидной артрит и истинная полицетемия характеризуются отложенным апоптозом нейтрофилов, выявленного в условиях эксперимента *in vitro* [95]. При синдроме Костманна и гликогенозе 1b обнаружены мутации, ассоциированные с нарушением метаболизма нейтрофилов (табл. 1), которые способствуют преждевременной активации внутриклеточных индукторов апоптоза и гибели клеток на этапе созревания, что и является основным этиологическим фактором в патогенезе хронической нейтропении при этих заболеваниях [76, 101, 102]. В настоящее время известно несколько групп врожденных нейтропений, развивающихся вследствие генетически обусловленного преждевременного апоптоза миелоидных предшественников нейтрофилов [14].

Факторы, увеличивающие продолжительность жизни нейтрофилов, появляются в сыворотке крови больных при воспалительных процессах различной этиологии. Такие регуляторы были обнаружены у пациентов с ожоговыми повреждениями, сепсисом, синдромом системного воспалительного ответа, реперфузионным повреждением, болезнью Крона, язвенным колитом, ревматоидным артритом, а также после обширных полостных операций [13, 80, 97, 114–117]. В синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом выявляются факторы разнонаправленной регуляции апоптоза, и их количественный анализ может иметь клиническое значение. Так, на ранней стадии ревматоидного артрита (длительность заболевания менее 3 мес) нейтрофилы синовиальной жидкости и периферической крови демонстрируют отложенный апоптоз, что связано с высоким уровнем содержания антиапоптозных цитокинов IL-2, IL-4, IL-15, GM-CSF и G-CSF. В то же время при активном ревматоидном артрите в синовиальной жидкости появляется растворимый FasL, и локальное количество апоптозных форм нейтрофилов увеличивается, несмотря на повышенное содержание G-CSF [13]. По-видимому, это связано с редукцией ответа нейтрофилов больных ревматоидным артритом на воспалительные цитокины GM-CSF, G-CSF и TNF, сопровождающейся увеличением базального уровня фосфорилирования киназ ERK и p38MAPK [118]. Экспериментальным путем выявлено, что развитие индуцированного иммунными комплексами артрита опосредовано активацией Fcγ рецепторов и связанной с ними тирозинкиназы Syk, модулирующей скорость апоптоза нейтрофилов. Низкая продукция воспалительных цитокинов и ускорение апоптоза являются отличительными особенностями дефицитных по Syk нейтрофилов суставной сумки [119]. Аналогичный механизм супрессии апоптоза нейтрофилов обнаружен при связывании иммунорецепторов FcγIIα с анти-IL-8/IL-8 иммунными комплексами, выделенными из легочной отечной жидкости больных с ОРДС [120]. R. Fudala и соавт. продемонстрировали, что в данное взаимодействие вовлечены протеины семейства тирозинкиназы Srk, тирозинкиназа Syk, киназы ERK и PI3-K, а в результате активации путей выживания баланс белков семейства Bcl-2 сдвигается в сторону антиапоптозного Bcl-X_L, снижая активность эффекторных каспаз -3 и -9. С уче-

Таблица 1. Нарушения процесса апоптоза нейтрофилов и связанные с ними изменения в системе вне- и внутриклеточной регуляции при некоторых заболеваниях и патологических состояниях

	Патологическое состояние, заболевание	Изменение в системе регуляции апоптоза нейтрофилов*	Ссылки
Замедление апоптоза	Атопия	Повышение индуцированной GM-CSF экспрессии CD69	[91]
	Болезнь Кавасаки	Повышение отношения A1/Bax	[94]
	Болезнь Крона и язвенный колит	↓ Экспрессия прокаспазы-3; ↑ концентрация IL-8 в системе циркуляции и G-CSF в участке воспаления	[80, 88]
	Бронхиальная астма в период обострения	↓ Секреция проапоптозного IL-10 макрофагами и моноцитами	[15]
	Ревматоидный артрит	↑ Экспрессия CD69, A1 и Mcl-1 mPHK; ↑ уровень GM-CSF и SAA в плазме крови	[95–97]
	Обширные механические травмы	↑ Уровень Mcl-1; ↓ уровень Bax; ↑ уровень GM-CSF в сыворотке; ↑ экспрессия Fas/FasL mPHK	[98]
	Муковисцидоз	↑ Уровень кальпастатина, ↓ уровень кальпаина-1; значительно ↑ уровень MIF в плазме крови	[40, 77]
	Ожоговая травма	↑ Экспрессия Bcl-XL, Hsp27, Hsp60, Hsp70; ↓ экспрессия Bax	[87, 92]
	Острый панкреатит	↓ Экспрессия каспаз	[93]
	Острый коронарный синдром	↑ Количество TNF, IFNγ, GM-CSF и IL-1β в сыворотке	[99]
	Пароксизмальная гемоглобиноурия	↑ Экспрессия генов A1 и Mcl-1	[86]
	Пародонтит	↑ Уровень GM-CSF в участке воспаления	[83]
	Сепсис	↑ Уровень Mcl-1 mRNA, ↑ транскрипционная активность NFκB; ↑ экспрессия Hsp27, Hsp60, Hsp70 и Hsp90; ↓ Активность каспаз-3, -9, -1	[78, 84, 85, 100]
	Хроническая нейтрофильная лейкемия	↓ Активность кальпаина	[89]
Ускорение апоптоза	Врожденный миелокатексис	↓ Экспрессия Bcl-X_L	[79]
	Гликогеноз Ib	Нарушение в системе антиоксидантной защиты, усиление ER-стресса, активация Bax, каспаз-3,-9	[101]
	Синдром Костманна (тяжелая врожденная нейтропения)	↑ Активность SHP-1 и SHP-2; нарушения Г6ФК3 и мутации эластаз, усиливающие ER-стресс; дестабилизация мембранного потенциала митохондрий вследствие дефицита HAX1 и AK2	[76, 102]
	Системная красная волчанка	Появление в системе циркуляции аутоантител к нейтрофилам; нарушение фагоцитарной активности; ↑ экспрессия каспаз -7, -8, -9 mPHK; ↓ экспрессия IAP1/2 и XIAP, а также mPHK к ним; ↑ экспрессия каспазы-3, Fas, и FADD; ↑ концентрация Fas и TRAIL в сыворотке крови	[103–105]
	Уремия	↑ Экспрессия Fas, ↑ концентрация апоптозных факторов в системе циркуляции	[81, 90]
	Хирургическая операция с общей анестезией	Дисфункция митохондрий	[82]

* Все изменения касаются внутриклеточной системы регуляции апоптоза нейтрофилов, кроме указанных для цитокинов, аутоантител, а также внеклеточных проапоптозных факторов при уремии.

том полученных данных и сообщений об обнаружении других аутоантител в легочной отечной жидкости больных с ОРДС, R. Fudala и соавт. предполагают, что аутоиммунные механизмы вносят существенный вклад в увеличение продолжительности жизни функционально активных нейтрофилов и имеют важное значение в патогенезе данного синдрома [120].

СТРЕСС КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА

Реакция организма на психоэмоциональный или физиологический стресс сопровождается усилением поступления в систему циркуляции катехоламинов и ГК [121]. Активация симпатической системы при стрессе затрагивает иммунорегуляторные механизмы посредством синтеза и высвобождения ряда провоспалительных медиаторов, в том числе IL-6, IL-1β и TNF [121], известных как модуляторы апоптоза нейтрофилов [5, 8, 36, 38, 52]. В то же время стимуляция парасимпатической системы и поступающие в циркуляцию ГК вносят существенный вклад в угнетение воспаления [121]. Характер и длительность стрессорного воздействия выступают факторами взаиморегуляции активности нейроэндокринной и иммунной систем, что проявляется в неоднозначном влиянии стресса на жизнеспособность нейтрофилов. Так, у лиц, находящихся под влиянием продолжительного экзаменационного стресса или имеющих расстройство адаптации, отмечена активация спонтанного апоптоза нейтрофилов [8, 122]. Однако у здоровых людей, перенесших краткосрочный стресс в форме голодания, усиленной спортивной нагрузки или нарушения сна, выявлена задержка апоптоза [8].

Исследования *in vitro* показали, что лекарственные средства группы ГК значительно повышают жизнеспособность нейтрофилов здоровых доноров [123]. Агонисты β2-адренорецепторов (сальбутамол, формотерол, сальметерол) потенцируют антиапоптозный эффект ГК (будесонид, флутиказон) в аналогичных экспериментальных условиях, однако собственного действия на спонтанный апоптоз нейтрофилов не оказывают [124]. Среди терапевтических средств группы ГК наиболее изученным по влиянию на процессы апоптоза является дексаметазон. В течение первых 24 ч инкубации дексаметазон снижает спонтанный апоптоз нейтрофилов на 50%, тогда как сочетанная обработка нейтрофилов дексаметазоном и лейкотриеном B4 угнетает их апоптоз на 90% [125]. В то же время антиапоптозный эффект GM-CSF на нейтрофилы незначительно усиливается глюкокортикоидами, в том числе и дексаметазоном [123, 124]. Интересно отметить, что дексаметазон увеличивает экспрессию на нейтрофилах рецепторов для лейкотриена B4 [125], который обладает собственным антиапоптозным потенциалом [124]. Этот препарат также подавляет апоптоз нейтрофилов, индуцированный окислительным стрессом (инкубация клеток в ферментативной системе глюкоза/глюкозоксидаза) [126], что, по-видимому, обусловлено его способностью подавлять NADPH-зависимую продукцию ROS [127]. ГК-опосредованное угнетение апоптоза сопровождается увеличением экспрессии белков-ингибиторов апоптоза семейства IAP и фактора выживания Mcl-1 в нейтрофилах человека, а в экспериментах с использованием нейтрофилов быка обнаружены увеличение экспрессии фактора выживания A1, снижение экспрессии проапоптозного фактора Bak и уменьшение количества Fas-рецепторов на клеточной поверхности [127]. Следует отметить, что при хроническом стрессе отмечается резистентность к воздействию ГК вследствие ингибирования функциональной активности ГК рецепторов [128].

Несмотря на обнаруженный антиапоптозный эффект ГК на нейтрофилы в условиях *in vitro*, способный поддержать в определенной степени развитие острой фазы воспалительной реакции, синтетические ГК активно применяются в клинической практике в качестве противовоспалительных средств, демонстрируя широкий спектр регуляторного воздействия на интенсивность иммунного ответа. Усиливая фагоцитарную активность макрофагов, направленную на удаление апоптозных форм нейтрофилов, ГК вносят существенный вклад в развертывание фазы разрешения воспаления [129]. Регулируя транскрипционную активность множества генов, ГК индуцируют экспрессию в нейтрофилах двух протеинов, обладающих проапоптозным потенциалом и выраженным антивоспалительным действием – аннексина 1, также известного как липокортин-1 [130], и протеина, кодируемого геном GILZ [127]. Стимулируя апоптоз нейтрофилов, эти пептиды, по-видимому, способны сглаживать прямой антиапоптозный эффект ГК.

Таким образом, стресс посредством связанных с ним гормонов и нейромедиаторов вызывает разнонаправленные нарушения в системе комплексной регуляции продолжительности функционально активной жизни нейтрофилов, оказывая влияние на чувствительность организма к инфекциям и способность к восстановлению гомеостаза в очаге повреждения.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ АПОПТОЗА НЕЙТРОФИЛОВ

Нарушения функциональной активности нейтрофилов, включая нарушения апоптоза, отмечаются при заболеваниях различного генеза (табл. 1), что привлекает внимание исследователей к этим клеткам как к объекту терапевтического воздействия [22, 23, 130]. В качестве потенциальных мишеней фармакологического воздействия могут рассматриваться ключевые индукторы и модуляторы апоптоза нейтрофилов (рис. 1). К настоящему времени на различных моделях воспаления у мышей показано, что некоторые соединения проявляют противовоспалительное действие, сопровождающееся усилением апоптоза нейтрофилов. В частности, такой терапевтический эффект был обнаружен у R-росковитина (ингибитор CDK) на моделях каррагенан-индуцированного плеврита,

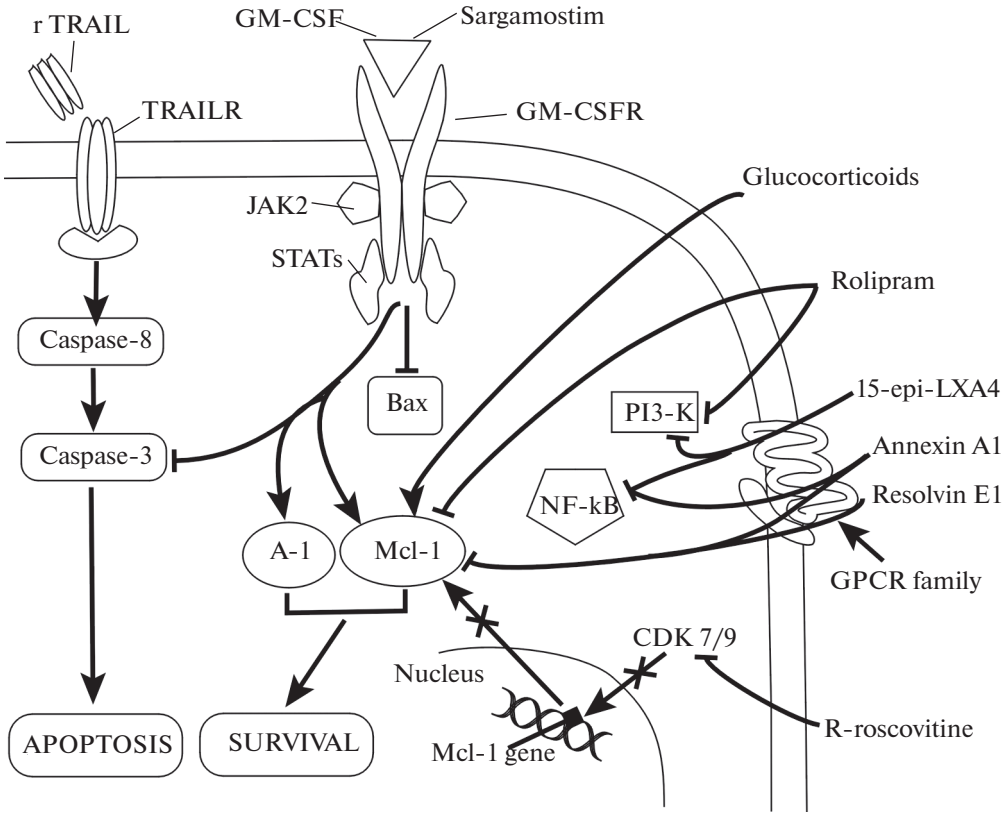


Рис. 2. Молекулярные механизмы модуляции апоптоза нейтрофилов потенциальными фармакологическими средствами. Противовоспалительные эффекты ролипрама, R-росковитина и эндогенных медиаторов фазы разрешения воспаления (аннексин A1, резолвин E1, липоксин A4) опосредуются сдвигом баланса белков семейства Bcl-2 в сторону преобладания проапоптозных факторов, а также блокадой проведения сигнала выживания посредством киназы PI3-K и фактора транскрипции NF-κB. Рекомбинантный лиганд "рецептора смерти" TRAILR (rTRAIL) индуцирует апоптоз по каспазному механизму (см. рис. 1). Эффект саргамостима индуцируется связыванием с рецептором GM-CSF (GM-CSFR) цитокинового типа и аналогичен антиапоптозному эффекту GM-CSF. Экспрессия фактора выживания Mcl-1 усиливается под действием глюкокортикоидов.

блеомицин-индуцированного повреждения легких и пневмококкового менингита [132, 133], ролипрама (ингибитор PDE-4) на модели ЛПС-индуцированного плеврита [134] и rTRAIL (рекомбинантный лиганд TRAIL-R) на моделях зимозан-индуцированного перитонита и ЛПС-индуцированного острого повреждения легких [135]. В качестве потенциальных противовоспалительных средств, усиливающих как апоптоз, так и эфероцитоз нейтрофилов, представляют интерес эндогенные медиаторы резолвин E1, аннексин A1 и эпимер липоксина A4, демонстрирующие терапевтичекую эффективность на экспериментальных моделях воспаления [15, 23]. Основными молекулярными мессенджерами, обусловливающими проапоптозный эффект вышеупомянутых соединений, являются белки семейства Bcl-2, регуляторные киназы и эффекторная каспаза-3 (рис. 2).

В настоящее время ряд соединений, обладающих плейотропным действием, в том числе и проапоптозным эффектом в отношении нейтрофилов, находится на различных фазах клинических испытаний. Так, росковитин проходит клинические испытания не только как средство терапии некоторых онкологических заболеваний, но и как потенциальный противовоспалительный препарат для лечения ревматоидного артрита, гломерулонефрита и муковисцедоза, осложненного хронической инфекцией [136]. При других патологиях, напротив, терапевтический эффект фармакологических средств связан с пролонгацией жизнеспособности нейтрофилов. Так, при химиотерапии опухолей часто развивается нейтропения. В этих случаях применение рекомбинантного GM-CSF (саргамостим) приводит к замедлению апоптоза нейтрофилов, вызванного действием противоопухолевых препаратов. Сходный эффект описан и для синтетических кортикостероидов, таких как флутиказон и преднизолон [137] (рис. 2).

Следует также отметить, что апоптозные формы нейтрофилов обладают собственным противовоспалительным потенциалом, возможно, благодаря высвобождению из них α-дефензимов – небольших катионных пептидов, подавляющих продук-

цию макрофагами провоспалительных цитокинов [138]. При введении апоптозных форм нейтрофилов экспериментальным животным с ЛПС-индуцированным сепсисом отмечались снижение количества циркулирующих провоспалительных цитокинов и предотвращение эндотоксического шока [139], что позволяет рассматривать эти клетки в качестве потенциального средства борьбы с "цитокиновым штормом".

ДРУГИЕ ФОРМЫ ГИБЕЛИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

С точки зрения регуляции интенсивности воспалительного ответа, форма гибели нейтрофилов в очаге воспаления является не менее важным иммуномодулирующим фактором, чем степень их функциональной активности. Литические формы гибели клеток (нетоз, пироптоз, некроз и некроптоз) часто сопровождаются усилением интенсивности острой фазы воспаления вследствие высвобождения из гибнущих клеток DAMP, ROS и протеаз [1, 140, 141]. Апоптоз, напротив, представляет собой нелитическую эволюционно консервативную форму гибели клеток, не обладающую воспалительным потенциалом [7, 140]. В отличие от других форм гибели, нетоз характеризуется формированием экстраклеточных антимикробных сетей из покидающих клетку деконденсированных нитей ядерных ДНК, цитруллинированных гистонов и бактерицидных протеаз гранулярного аппарата. Следует отметить, что нетоз не всегда сопровождается лизисом цитоплазматической мембраны, а безъядерная форма нейтрофила сохраняет ряд эффекторных функций, включая фагоцитоз [1, 7, 140]. Пироптоз направлен на элиминацию внутриклеточных патогенов с помощью внутриклеточных антимикробных ловушек, формирование которых опосредовано образованием специфических мембранных пор [140, 142]. Некроптоз нейтрофилов (регулируемый некроз) индуцируется различными сигналами и, по-видимому, представляет собой дополнительный фактор противовирусной защиты [140, 142].

Аутофагия – это крайне консервативный защитный ответ клетки на стресс, в том числе на недостаток питательных веществ [7, 141, 143]. При чрезмерной силе стрессового воздействия аутофагия может обернуться гибелью клетки [141, 144]. Морфологическим маркером аутофагии являются ограниченные двойной мембраной крупные цитоплазматические вакуоли, или аутофагосомы, которые после слияния с лизосомами трансформируются в аутолизосомы, где и происходит литический распад собственных макромолекул и поврежденных органелл [7, 141, 143]. Аутофагия часто сопровождает апоптоз, нетоз и некроз нейтрофилов [143, 145], а при некоторых инфекциях встраивается в систему иммунной защиты от патогена, обеспечивая его элиминацию в аутолизосомах (феномен ксенофагии) [144, 145].

Механизмы литических форм гибели нейтрофилов в патогенезе изучены недостаточно, но, тем не менее, выявлено, что они имеют существенные отличия от апоптоза, при котором протеолиз субстратов обеспечивается преимущественно активацией эффекторных каспаз [6–8, 140] (рис. 1). Кроме некроза, представляющего собой процесс неконтролируемого набухания клетки с последующим разрушением мембран и распадом [141], все иные формы гибели запрограммированы в виде специфических последовательностей молекулярных событий [6, 140, 142], предусматривающих перекрестные внутриклеточные взаимодействия между различными путями проведения терминальных сигналов [136, 142, 143, 146]. Полученные к настоящему времени данные формируют общее представление, что именно программа апоптоза, в отличие от других программ гибели нейтрофилов, встроена в механизм комплексной супрессии острого воспалительного ответа в качестве основного регулятора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе эволюционного развития сформировалось несколько механизмов индукции апоптоза, которые поддерживаются разнонаправленными регуляторными путями, вовлеченными в конвергирующее взаимодействие при трансдукции внешнего и внутреннего сигнала к эффекторным каспазам. Например, GM-CSF и TNF способны, с одной стороны, в значительной степени подавлять спонтанный апоптоз нейтрофилов периферической крови человека, а с другой, – ускорять апоптоз, опосредованный митохондриями по зависимому от каспазы-9 механизму [20]. Также выявлено, что индуцированный фагоцитозом апоптоз отменяет увеличение продолжительности жизни нейтрофилов, опосредованное провоспалительными цитокинами [7], а резистентность нейтрофилов к внутренним сигналам апоптоза, обнаруженная у тяжелобольных пациентов, преодолевается активацией Fas рецепторов [98]. Интересно отметить, что нейтрофилы крови пациентов с септическим шоком отличаются отложенным апоптозом, несмотря на заметное превышение экспрессии проапоптозного белка Bim [47]. Многофакторная регуляция продолжительности жизни нейтрофилов позволяет в ряде случаев нивелировать влияние инфекционного агента на апоптоз. Показано, что IL-6 и GM-CSF отменяют ускорение гибели нейтрофилов, индуцированной вирусом гриппа A(N1N1) и вирусом Эпштейна-Барр соответственно [42, 147]. Также показано, что ЛПС, с одной стороны, вызывает увеличение продолжительности жизни нейтрофилов, а с другой, стимулирует синтез рецептора IL-10, индуцирующих ускорение апоптоза в ответ на IL-10 [148]. Несмотря на то что все этапы воспали-

тельного ответа четко отрегулированы, хронизация патологического процесса может ассоциироваться с изменением базальной активности нейтрофилов и сопровождаться нарушением основного алгоритма регуляции апоптоза [73, 118]. Так, обнаружено, что нейтрофилы синовиальной жидкости больных ревматоидным артритом имеют изначально высокий уровень активации NF-κB, и их стимуляция TNF не сопровождается индукцией апоптоза в отличие от нейтрофилов циркуляторного русла [149]. Таким образом, судьбу нейтрофила определяет результирующий сдвиг внутриклеточного баланса про- и антиапопотозных факторов в ту или иную сторону под действием комплекса регуляторных сигналов, модулируемых уровнем базальной активности клетки.

Понимание механизмов мультимодальной регуляции апоптоза как фактора интегральной функциональной активности нейтрофилов имеет важнейшее значение для выработки терапевтической стратегии и выявления ключевых регуляторных молекул в качестве фармакологических мишеней новых лекарственных средств.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана Программой повышения конкурентоспособности Томского политехнического университета, грантом Российского научного фонда № 17-15-01111 (в рамках написания раздела “Фармакологическая модуляция апоптоза нейтрофилов”).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конкурирующих интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Е. М. Н. и И. А. Щ. провели обзор литературы и подготовили рукопись.

И. А. Щ. предложил концепцию и отредактировал рукопись.

Д. Н. А. тщательно отредактировал рукопись, представил критическую редакцию и внес свой вклад в окончательный вариант рукописи.

Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Liew P.X., Kubes P.* (2019) The Neutrophil’s Role During Health and Disease. Physiol Rev 99 (2): 1223–1248.
2. *Geering B., Stoeckle C., Conus S., Simon H.U.* (2013) Living and dying for inflammation: neutrophils, eosinophils, basophils. Trends Immunol 34 (8): 398–409.
3. *Frangogiannis N.G.* (2014) The immune system and the remodeling infarcted heart: cell biological insights and therapeutic opportunities. J Cardiovasc Pharmacol 63 (3): 185–195.
4. *Schett G., Neurath M.F.* (2018) Resolution of chronic inflammatory disease: universal and tissue-specific concepts. Nat Commun 9 (1): 3261. https://doi.org/10.1038/s41467-018-05800-6
5. *Dibbert B., Weber M., Nikolaizjk W.H., Vogt P., Schöni M.H., Blaser K., Simon H.U.* (1999) Cytokine-mediated Bax deficiency and consequent delayed neutrophil apoptosis: a general mechanism to accumulate effector cells in inflammation. Proc Natl Acad Sci U S A 96 (23): 13330–13335.
6. *Akgul C., Moulding D.A., Edwards S.W.* (2001) Molecular control of neutrophil apoptosis. FEBS Lett 487 (3): 318–322.
7. *Kennedy A.D., DeLeo F.R.* (2009) Neutrophil apoptosis and the resolution of infection. Immunol Res 43 (1–3): 25–61.
8. *Luo H.R., Loison F.* (2008) Constitutive neutrophil apoptosis: mechanisms and regulation. Am J Hematol 83 (4): 288–295.
9. *Kumar S., Dikshit M.* (2019) Metabolic Insight of Neutrophils in Health and Disease. Front Immunol 10:2099. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02099
10. *Binet F., Chiasson S., Girard D.* (2010) Evidence that endoplasmic reticulum (ER) stress and caspase-4 activation occur in human neutrophils. Biochem Biophys Res Commun 391 (1): 18–23.
11. *Kobayashi S.D., Malachowa N., DeLeo F.R.* (2017) Influence of Microbes on Neutrophil Life and Death. Front Cell Infect Microbiol 7: 159. https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00159
12. *Slavich G.M., Irwin M.R.* (2014) From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. Psychol Bull 140 (3): 774–815.
13. *Cascão R., Rosário H.S., Souto-Carneiro M.M., Fonseca J.E.* (2010) Neutrophils in rheumatoid arthritis: More than simple final effectors. Autoimmun Rev 9 (8): 531–535.
14. *Bartels M., Murphy K., Rieter E., Bruin M.* (2016) Understanding chronic neutropenia: life is short. Br J Haematol 172 (2): 157–169.
15. *Barnig C., Bezema T., Calder P.C., Charloux A., Frossard N., Garssen J., Haworth O., Dilevskaya K., Levi-Schaffer F., Lonsdorfer E., Wauben M., Kraneveld A.D., Te Velde A.A.* (2019) Activation of Resolution Pathways to Prevent and Fight Chronic Inflammation: Lessons From Asthma and Inflammatory Bowel Disease. Front Immunol 10: 1699. https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01699
16. *Dyugovskaya L., Polyakov A., Ginsberg D., Lavie P., Lavie L.* (2011) Molecular pathways of spontaneous and TNF-{alpha}-mediated neutrophil apoptosis under intermittent hypoxia. Am J Respir Cell Mol Biol 45 (1): 154–162.
17. *Harris A.J., Mirchandani A.S., Lynch R.W., Murphy F., Delaney L., Small D., Coelho P., Watts E.R., Sadiku P., Griffith D., Dickinson R.S., Clark E., Willson J.A., Morrison T., Mazzone M., Carmeliet P., Ghesquiere B., O’Kane C., McAuley D., Jenkins S.J., Whyte M.K.B., Walmsley S.R.* (2019) IL4Rα Signaling Abrogates Hy-

poxic Neutrophil Survival and Limits Acute Lung Injury Responses In Vivo. Am J Respir Crit Care Med 200 (2): 235–246.

18. *Le'Negrate G., Rostagno P., Auberger P., Rossi B., Hofman P.* (2003) Downregulation of caspases and Fas ligand expression, and increased lifespan of neutrophils after transmigration across intestinal epithelium. Cell Death Differ 10 (2): 153–162.
19. *Tennenberg S.Dl., Finkenauer R., Wang T.* (2002) Endothelium down-regulates Fas, TNF, and TRAIL-induced neutrophil apoptosis. Surg Infect (Larchmt) 3 (4): 351–357.
20. *Cowburn A.S., Summers C., Dunmore B.J., Farahi N., Hayhoe R.P., Print C.G., Cook S.J., Chilvers E.R.* (2011) Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor causes a paradoxical increase in the BH3-only pro-apoptotic protein Bim in human neutrophils. Am J Respir Cell Mol Biol 44 (6): 879–887.
21. *Ross E.A., Douglas M.R., Wong S.H., Ross E.J., Curnow S.J., Nash G.B., Rainger E., Scheel-Toellner D., Lord J.M., Salmon M., Buckley C.D.* (2006) Interaction between integrin alpha9beta1 and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) inhibits neutrophil apoptosis. Blood 107 (3): 1178–1183.
22. *Filep J.G., El Kebir D.* (2009) Neutrophil apoptosis: a target for enhancing the resolution of inflammation. J Cell Biochem 108 (5): 1039–1046.
23. *El Kebir D., Filep J.G.* (2013) Targeting neutrophil apoptosis for enhancing the resolution of inflammation. Cells. 2 (2): 330–348.
24. *Pluskota E., Soloviev D.A., Szpak D., Weber C., Plow E.F.* (2008) Neutrophil apoptosis: selective regulation by different ligands of integrin alphaMbeta2. J Immunol 181 (5): 3609–3619.
25. *El Kebir D., József L., Pan W., Filep J.G.* (2008) Myeloperoxidase delays neutrophil apoptosis through CD11b/CD18 integrins and prolongs inflammation. Circ Res 103 (4): 352–359.
26. *Kettritz R., Choi M., Rolle S., Wellner M., Luft F.C.* (2004) Integrins and cytokines activate nuclear transcription factor-kappaB in human neutrophils J Biol Chem. 279 (4): 2657–2665.
27. *Gu J., Nada S., Okada M., Sekiguchi K.* (2003) Csk regulates integrin-mediated signals: involvement of differential activation of ERK and Akt. Biochem Biophys Res Commun 303 (3): 973–977.
28. *Avdi N.J., Nick J.A., Whitlock B.B., Billstrom M.A., Henson P.M., Johnson G.L., Worthen G.S.* (2001) Tumor necrosis factor-alpha activation of the c-Jun N-terminal kinase pathway in human neutrophils. Integrin involvement in a pathway leading from cytoplasmic tyrosine kinases apoptosis. J Biol Chem 276 (3): 2189–2199.
29. *Rubel C., Gomez S., Fernandez G.C., Isturiz M.A., Caamano J., Palermo M.S.* (2003) Fibrinogen-CD11b/CD18 interaction activates the NF-κB pathway and delays apoptosis in human neutrophils. Eur J Immunol 33: 1429–1438.
30. *Coxon A., Rieu P., Barkalow F.J., Askari S., Sharpe A.H., von Andrian U.H., Arnaout M.A., Mayadas T.N.* (1996) A novel role for the beta 2 integrin CD11b/CD18 in neutrophil apoptosis: a homeostatic mechanism in inflammation. Immunity 5 (6), 653–666.
31. *Whitlock B.B., Gardai S., Fadok V., Bratton D., Henson P.M.* (2000) Differential roles for alpha (M) beta (2) integrin clustering or activation in the control of apoptosis via regulation of akt and ERK survival mechanisms. J Cell Biol. 151 (6): 1305–1320.
32. *Kettritz R., Xu Y.X., Faass B., Klein J.B., Müller E.C., Otto A., Busjahn A., Luft F. C, Haller H.* (2000) TNF-alpha-mediated neutrophil apoptosis involves Ly-GDI, a Rho GTPase regulator. J Leukoc Biol 68 (2): 277–283.
33. *Yuki K., Hou L.* (2020) Role of β2 Integrins in Neutrophils and Sepsis. Infect Immun. 88 (6): e00031. https://doi.org/10.1128/IAI.00031-20
34. *Meszaros A.J., Reichner J.S., Albina J.E.* (2000) Macrophage-induced neutrophil apoptosis. J Immunol 165 (1): 435–441.
35. *Kourtzelis I., Hajishengallis G., Chavakis T.* (2020) Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation. Front Immunol 11:553. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00553
36. *Futosi K., Fodor S., Mócsai A.* (2013) Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. Int Immunopharmacol. 17 (3): 638–650.
37. *Щепеткин И.А., Чердынцева Н.В., Васильев Н.В.* (1994) Регуляция функциональной активности нейтрофилов цитокинами. Иммунология. 15 (1): 4–6. 58. [Schepetkin I.A., Cherdyntseva N.V., Vasil'ev N.V. (1994) Regulation of functional activity of neutrophils by cytokines (review). Immunologiya/Immunology (Russia). 15 (1): 4–6. 58. (In Russ)].
38. *McNamee J.P., Bellier P.V., Kutzner B.C., Wilkins R.C.* (2005) Effect of pro-inflammatory cytokines on spontaneous apoptosis in leukocyte sub-sets within a whole blood culture. Cytokine. 31 (2): 161–167.
39. *Pericle F., Liu J.H., Diaz J.I., Blanchard D.K., Wei S., Forni G., Djeu J.Y.* (1994) Interleukin-2 prevention of apoptosis in human neutrophils. Eur J Immunol 24 (2): 440–444.
40. *Baumann R., Casaulta C., Simon D., Conus S., Yousefi S., Simon H.U.* (2003) Macrophage migration inhibitory factor delays apoptosis in neutrophils by inhibiting the mitochondria-dependent death pathway. FASEB J 17 (15): 2221–2230.
41. *Biffl W.L., Moore E.E., Moore F.A., Barnett C.C.Jr.* (1995) Interleukin-6 suppression of neutrophil apoptosis is neutrophil concentration dependent. J Leukoc Biol 58 (5): 582–584.
42. *Dienz O., Rud J.G., Eaton S.M., Lanthier P.A., Burg E., Drew A., Bunn J., Suratt B.T., Haynes L., Rincon M.* (2012) Essential role of IL-6 in protection against H1N1 influenza virus by promoting neutrophil survival in the lung. Mucosal Immunol 5 (3): 258–266.
43. *Allaeys I., Gymninova I., Canet-Jourdan C., Poubelle P.E.* (2014) IL-32γ delays spontaneous apoptosis of human neutrophils through MCL-1, regulated primarily by the p38 MAPK pathway. PLoS One 9 (10): e109256. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109256
44. *Himpe E., Degaillier C., Coppens A., Kooijman R.* (2008) Insulin-like growth factor-1 delays Fas-mediated apoptosis in human neutrophils through the phosphatidylinositol-3 kinase pathway. J Endocrinol 199 (1): 69–80.
45. *Klein J.B., Rane M.J., Scherzer J.A., Coxon P.Y., Kettritz R., Mathiesen J.M., Buridi A., McLeish K.R.* (2000) Granu-

locyte-macrophage colony-stimulating factor delays neutrophil constitutive apoptosis through phosphoinositide 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways. J Immunol 164 (8): 4286–4291.

46. *Щепеткин И.А., Буданова О.П., Малышев И.Ю., Аточин Д.Н.* (2018) Молекулярные механизмы апоптоза нейтрофилов (обзор литературы). Патогенез 16 (4): 5–18. [Schepetkin I.A., Budanova O.P., Malyshev I.Yu., Atochin D.N. (2018) Molecular mechanisms of neutrophil apoptosis (review). Patogenez /Pathogenesis (Russia) 16 (4): 5–18. (in Russ)].
47. *Andina N., Conus S., Schneider E.M., Fey M.F., Simon H.U.* Induction of Bim limits cytokine-mediated prolonged survival of neutrophils. Cell Death Differ 16 (9): 1248–1255. 2009.
48. *Leavey P.J., Sellins K.S., Thurman G., Elzi D., Hiester A., Silliman C.C., Zerbe G., Cohen J.J., Ambruso D.R.* (1998) *In vivo* treatment with granulocyte colony-stimulating factor results in divergent effects on neutrophil functions measured in vitro. Blood 92 (11): 4366–4374.
49. *Liles W.C., Kiener P.A., Ledbetter J.A., Aruffo A., Klebanoff S.J.* (1996) Differential expression of Fas (CD95) and Fas ligand on normal human phagocytes: implications for the regulation of apoptosis in neutrophils. J Exp Med 184 (2): 429–440.
50. *Iwase M., Takaoka S., Uchida M., Kondo G., Watanabe H., Ohashi M., Nagumo M.* (2006) Accelerative effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor on Fas-mediated apoptosis in human neutrophils. Int Immunopharmacol 6 (3): 334–341.
51. *Villunger A., O'Reilly L.A., Holler N., Adams J., Strasser A.* (2000) Fas ligand, Bcl-2, granulocyte colony-stimulating factor, and p38 mitogen-activated protein kinase: Regulators of distinct cell death and survival pathways in granulocytes. J Exp Med 192 (5): 647–658.
52. *Ottonello L., Frumento G., Arduino N., Bertolotto M., Dapino P., Mancini M., Dallegri F.* (2002) Differential regulation of spontaneous and immune complex-induced neutrophil apoptosis by proinflammatory cytokines. Role of oxidants, Bax and caspase-3. J Leukoc Biol 72 (1): 125–132.
53. *Cowburn A.S., Cadwallader K.A., Reed B.J., Farahi N., Chilvers E.R.* (2002) Role of PI3-kinase-dependent Bad phosphorylation and altered transcription in cytokine-mediated neutrophil survival. Blood 100 (7): 2607–2616.
54. *Sakamoto C., Suzuki K., Hato F., Akahori M., Hasegawa T., Hino M., Kitagawa S.* (2003) Antiapoptotic effect of granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and cyclic AMP on human neutrophils: protein synthesis-dependent and protein synthesis-independent mechanisms and the role of the Janus kinase-STAT pathway. Int J Hematol 77 (1): 60–70.
55. *Hasegawa T., Suzuki K., Sakamoto C., Ohta K., Nishiki S., Hino M., Tatsumi N., Kitagawa S.* (2003) Expression of the inhibitor of apoptosis (IAP) family members in human neutrophils: up-regulation of cIAP2 by granulocyte colony-stimulating factor and overexpression of cIAP2 in chronic neutrophilic leukemia. Blood 101 (3): 1164–1171.
56. *Pelletier M., Ratthé C., Girard D.* (2002) Mechanisms involved in interleukin-15-induced suppression of human neutrophil apoptosis: role of the anti-apoptotic Mcl-1 protein and several kinases including Janus kinase-2, p 38 mitogen-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinases-1/2. FEBS Lett 532 (1–2): 164–170.
57. *Sakamoto E., Hato F., Kato T., Sakamoto C., Akahori M., Hino M., Kitagawa S.* (2005) Type I and type II interferons delay human neutrophil apoptosis via activation of STAT3 and up-regulation of cellular inhibitor of apoptosis 2. J Leukoc Biol 78 (1): 301–309.
58. *Aoshiba K., Yasui S., Hayashi M., Tamaoki J., Nagai A.* (1999) Role of p38-mitogen-activated protein kinase in spontaneous apoptosis of human neutrophils. J Immunol 162 (3): 1692–1700.
59. *Scheel-Toellner D., Wang K., Henriquez N.V., Webb P.R., Craddock R., Pilling D., Akbar A.N., Salmon M., Lord J.M.* (2002) Cytokine-mediated inhibition of apoptosis in non-transformed T cells and neutrophils can be dissociated from protein kinase B activation. Eur J Immunol 32 (2): 486–493.
60. *Wang K., Scheel-Toellner D., Wong S.H., Craddock R., Caamano J., Akbar A.N., Salmon M., Lord J.M.* (2003) Inhibition of neutrophil apoptosis by type 1 IFN depends on cross-talk between phosphoinositol 3-kinase, protein kinase C-delta, and NF-kappa B signaling pathways. J Immunol 171 (2): 1035–1041.
61. *Hirata J., Kotani J., Aoyama M., Kashiwamura S., Ueda H., Kuroda Y., Usami M., Okamura H., Marukawa S.* (2008) A role for IL-18 in human neutrophil apoptosis. Shock 30 (6): 628–633.
62. *Keel M., Ungethüm U., Steckholzer U., Niederer E., Hartung T., Trentz O., Ertel W.* (1997) Interleukin-10 counterregulates proinflammatory cytokine-induced inhibition of neutrophil apoptosis during severe sepsis. Blood 90 (9): 3356–3363.
63. *Cox G.* (1996) IL-10 enhances resolution of pulmonary inflammation in vivo by promoting apoptosis of neutrophils. Am J Physiol 271 (4 Pt 1): L566–L571.
64. *Ward C., Murray J., Clugston A., Dransfield I., Haslett C., Rossi A.G.* (2005) Interleukin-10 inhibits lipopolysaccharide-induced survival and extracellular signal-regulated kinase activation in human neutrophils. Eur J Immunol 35 (9): 2728–2737.
65. *Bazzoni F., Tamassia N., Rossato M., Cassatella M.A.* (2010) Understanding the molecular mechanisms of the multifaceted IL-10-mediated anti-inflammatory response: lessons from neutrophils. Eur J Immunol 40 (9): 2360–2368.
66. *El Kebir D., József L., Filep J.G.* (2008) Neutrophil recognition of bacterial DNA and Toll-like receptor 9-dependent and -independent regulation of neutrophil function. Arch Immunol Ther Exp (Warsz) 56 (1): 41–53.
67. *Kinkead L.C., Whitmore L.C., McCracken J.M., Fletcher J.R., Ketelsen B.B., Kaufman J.W., Jones B.D., Weiss D.S., Barker J.H., Allen L.H.* (2018) Bacterial lipoproteins and other factors released by Francisella tularensis modulate human neutrophil lifespan: Effects of a TLR1 SNP on apoptosis inhibition. Cell Microbiol 20 (2): e12795. https://doi.org/10.1111/cmi.12795

68. *François S., El Benna J., Dang P.M., Pedruzzi E., Gougerot-Pocidalo M.A., Elbim C.* (2005) Inhibition of neutrophil apoptosis by TLR agonists in whole blood: involvement of the phosphoinositide 3-kinase/Akt and NF-kappaB signaling pathways, leading to increased levels of Mcl-1, A1, and phosphorylated Bad. J Immunol 174 (6): 3633–3642.

69. *Sunil V.R., Connor A.J., Lavnikova N., Gardner C.R., Laskin J.D., Laskin D.L.* (2002) Acute endotoxemia prolongs the survival of rat lung neutrophils in response to 12-O-tetradecanoyl-phorbol 13-acetate. J Cell Physiol 190 (3): 382–389.

70. *Jeong Y.J., Kang M.J., Lee S.J., Kim C.H., Kim J.C., Kim T.H., Kim D.J., Kim D., Núñez G., Park J.H.* (2014) Nod2 and Rip2 contribute to innate immune responses in mouse neutrophils. Immunology 143 (2): 269–276.

71. *O'Donnell J.A., Kennedy C.L., Pellegrini M., Nowell C.J., Zhang J.G., O'Reilly L.A., Cengia L., Dias S., Masters S.L., Hartland E.L., Roberts A.W., Gerlic M., Croker B.A.* (2015) Fas regulates neutrophil lifespan during viral and bacterial infection. J Leukoc Biol 97 (2): 321–326.

72. *Черешнев В.А., Гусев Е.Ю.* (2012) Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления. Медицинская иммунология 14 (1–2): 9–20. [Chereshnev V.A., Gusev E.Yu. (2012) Immunological and Pathophysiological mechanisms of Systemic Inflammation. Meditsinskaya Immunologiya/Med Immunol (Russia) 14 (1–2): 9–20. (In Russ)]

73. *Wright H.L., Moots R.J., Edwards S.W.* (2014) The multifactorial role of neutrophils in rheumatoid arthritis. Nat Rev Rheumatol 10 (10): 593–601.

74. *Wang S.Z., Forsyth K.D.* (2000) The interaction of neutrophils with respiratory epithelial cells in viral infection. Respirology 5 (1): 1–10.

75. *Понякина И.Д.* (2003) Активация апоптоза нейтрофилов периферической крови как показатель аутоинтоксикации организма. Клин лаб диагн 7: 19–21. [Poniakina I.D. (2003) Activation of apoptosis of the peripheral blood neutrophils as an indicator of the body autointoxication. Klin Lab Diagn/Clin Lab Diagn (Russia) (7): 19–21. (in Russ)].

76. *Tidow N., Kasper B., Welte K.* (1999) SH2-containing protein tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2 are dramatically increased at the protein level in neutrophils from patients with severe congenital neutropenia (Kostmann's syndrome). Exp Hematol 27 (6): 1038–1045.

77. *Altznauer F., Conus S., Cavalli A., Folkers G., Simon H.U.* (2004) Calpain-1 regulates Bax and subsequent Smac-dependent caspase-3 activation in neutrophil apoptosis. J Biol Chem 279 (7): 5947–5957.

78. *Abraham E.* (2003) Nuclear factor-kappaB and its role in sepsis-associated organ failure J Infect Dis 187 Suppl 2: S364–369.

79. *Aprikyan A.A., Liles W.C., Park J.R., Jonas M., Chi E.Y., Dale D.C.* (2000) Myelokathexis, a congenital disorder of severe neutropenia characterized by accelerated apoptosis and defective expression of bcl-x in neutrophil precursors. Blood 95 (1): 320–327.

80. *Brannigan A.E., O'Connell P.R., Hurley H., O'Neill A., Brady H.R., Fitzpatrick J.M., Watson RW* (2000) Neutrophil apoptosis is delayed in patients with inflammatory bowel disease. Shock 13 (5): 361–366.

81. *Cohen G., Rudnicki M., Hörl W.H.* (2001) Uremic toxins modulate the spontaneous apoptotic cell death and essential functions of neutrophils. Kidney Int Suppl 78: S48–52.

82. *Delogu G., Moretti S., Famularo G., Antonucci A., Signore L., Marcellini S., Lo Bosco L., De Simone C.* (2001) Circulating neutrophils exhibit enhanced apoptosis associated with mitochondrial dysfunctions after surgery under general anaesthesia. Acta Anaesthesiol Scand 45 (1): 87–94.

83. *Gamonal J., Sanz M., O'Connor A., Acevedo A., Suarez I., Sanz A., Martínez B., Silva A.* (2003) Delayed neutrophil apoptosis in chronic periodontitis patients. J Clin Periodontol 30 (7): 616–623.

84. *Härter L., Mica L., Stocker R., Trentz O., Keel M.* (2003) Mcl-1 correlates with reduced apoptosis in neutrophils from patients with sepsis. J Am Coll Surg 197 (6): 964–973.

85. *Hashiguchi N., Ogura H., Tanaka H., Koh T., Nakamori Y., Noborio M., Shiozaki T., Nishino M., Kuwagata Y., Shimazu T., Sugimoto H.* (2001) Enhanced expression of heat shock proteins in activated polymorphonuclear leukocytes in patients with sepsis. J Trauma 51 (6): 1104–1109.

86. *Heeney M.M., Ormsbee S.M., Moody M.A., Howard T.A., DeCastro C.M., Ware R.E.* (2003) Increased expression of anti-apoptosis genes in peripheral blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Mol Genet Metab 78 (4): 291–294.

87. *Hu Z., Sayeed M.M.* (2004) Suppression of mitochondria-dependent neutrophil apoptosis with thermal injury. Am J Physiol Cell Physiol 286 (1): C170–178.

88. *Ina K., Kusugami K., Hosokawa T., Imada A., Shimizu T., Yamaguchi T., Ohsuga M., Kyokane K., Sakai T., Nishio Y., Yokoyama Y., Ando T.* (1999) Increased mucosal production of granulocyte colony-stimulating factor is related to a delay in neutrophil apoptosis in Inflammatory Bowel disease. J Gastroenterol Hepatol 14 (1): 46–53.

89. *Kobayashi S., Yamashita K., Takeoka T., Ohtsuki T., Suzuki Y., Takahashi R., Yamamoto K., Kaufmann S.H., Uchiyama T., Sasada M., Takahashi A.* (2002) Calpain-mediated X-linked inhibitor of apoptosis degradation in neutrophil apoptosis and its impairment in chronic neutrophilic leukemia. J Biol Chem 277 (37): 33968–33977.

90. *Majewska E., Baj Z., Sulowska Z., Rysz J., Luciak M.* (2003) Effects of uraemia and haemodialysis on neutrophil apoptosis and expression of apoptosis-related proteins. Nephrol Dial Transplant 18 (12): 2582–2588.

91. *Nopp A., Stridh H., Grönneberg R., Lundahl J.* (2002) Lower apoptosis rate and higher CD69 expression in neutrophils from atopic individuals. Inflamm Res 51 (11): 532–540.

92. *Ogura H., Hashiguchi N., Tanaka H., Koh T., Noborio M., Nakamori Y., Nishino M., Kuwagata Y., Shimazu T., Sugimoto H.* (2002) Long-term enhanced expression of heat shock proteins and decelerated apoptosis in polymorphonuclear leukocytes from major burn patients. J Burn Care Rehabil 23 (2): 103–109.

93. *O'Neill S., O'Neill A.J., Conroy E., Brady H.R., Fitzpatrick J.M., Watson R.W.* (2000) Altered caspase expression results in delayed neutrophil apoptosis in acute pancreatitis. J Leukoc Biol 68 (1): 15–20.

94. *Tsujimoto H., Takeshita S., Nakatani K., Kawamura Y., Tokutomi T., Sekine I.* (2001) Delayed apoptosis of circulating neutrophils in Kawasaki disease. Clin Exp Immunol 126 (2): 355–364.

95. *Abdgawad M., Pettersson Å., Gunnarsson L., Bengtsson A.A., Geborek P., Nilsson L., Segelmark M., Hellmark T.* (2012) Decreased neutrophil apoptosis in quiescent ANCA-associated systemic vasculitis. PloS one 7 (3): e32439. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032439

96. *Atzeni F., Del Papa N., Sarzi-Puttini P., Bertolazzi F., Minonzio F., Capsoni F.* (2004) CD69 expression on neutrophils from patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 22 (3): 331–334.

97. *Christenson K., Björkman L., Tängemo C., Bylund J.* (2008) Serum amyloid A inhibits apoptosis of human neutrophils via a P2X7-sensitive pathway independent of formyl peptide receptor-like 1. J Leukoc Biol 83 (1): 139–148.

98. *Paunel-Görgülü A., Zörnig M., Lögters T., Altrichter J., Rabenhorst U., Cinatl J., Windolf J., Scholz M.* (2009) Mcl-1-mediated impairment of the intrinsic apoptosis pathway in circulating neutrophils from critically ill patients can be overcome by Fas stimulation. J Immunol 183 (10): 6198–6206.

99. *Garlichs C.D., Eskafi S., Cicha I., Schmeisser A., Walzog B., Raaz D., Stumpf C., Yilmaz A., Bremer J., Ludwig J., Daniel W.G.* (2004) Delay of neutrophil apoptosis in acute coronary syndromes. J Leukoc Biol 75 (5): 828–835.

100. *Taneja R., Parodo J., Jia S.H., Kapus A., Rotstein O.D., Marshall J.C.* (2004) Delayed neutrophil apoptosis in sepsis is associated with maintenance of mitochondrial transmembrane potential and reduced caspase-9 activity. Crit Care Med 32 (7): 1460–1469.

101. *Kim S.Y., Jun H.S., Mead P.A., Mansfield B.C., Chou J.Y.* (2008) Neutrophil stress and apoptosis underlie myeloid dysfunction in glycogen storage disease type Ib. Blood 111 (12): 5704–5711.

102. *Klein C.* (2011) Genetic defects in severe congenital neutropenia: emerging insights into life and death of human neutrophil granulocytes. Annu Rev Immunol 29: 399–413.

103. *Tsai C.Y., Li K.J., Hsieh S.C., Liao H.T., Yu C.L.* (2019) What's wrong with neutrophils in lupus? Clin Exp Rheumatol 37 (4): 684–693.

104. *Midgley A., McLaren Z., Moots R.J., Edwards S.W., Beresford M.W.* (2009) The role of neutrophil apoptosis in juvenile-onset systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 60(8):2390–2401.

105. *Midgley A., Mayer K., Edwards S.W., Beresford M.W.* (2011) Differential expression of factors involved in the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways in juvenile systemic lupus erythematosus. Lupus 20 (1): 71–79.

106. *Rumalla V.K., Calvano S.E., Spotnitz A.J., Krause T.J., Hilkert R.J., Lin E., Lowry S.F.* (2002) Alterations in immunocyte tumor necrosis factor receptor and apoptosis in patients with congestive heart failure. Ann Surg 236 (2): 254–260.

107. *Olsson L.M., Lindqvist A.K., Källberg H., Padyukov L., Burkhardt H., Alfredsson L., Klareskog L., Holmdahl R.* (2007) A case-control study of rheumatoid arthritis identifies an associated single nucleotide polymorphism in the NCF4 gene, supporting a role for the NADPH-oxidase complex in autoimmunity. Arthritis Res Ther 9 (5): R98. https://doi.org/10.1186/ar2299

108. *Olsson L.M., Johansson Å.C., Gullstrand B., Jönsen A., Saevarsdottir S., Rönnblom L., Leonard D., Wetterö J., Sjöwall C., Svenungsson E., Gunnarsson I., Bengtsson A.A., Holmdahl R.* (2017) A single nucleotide polymorphism in the NCF1 gene leading to reduced oxidative burst is associated with systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 76 (9): 1607–1613.

109. *Zhao J., Ma J., Deng Y., Kelly J.A., Kim K., Bang S.Y., Lee H.S., Li Q.Z., Wakeland E.K., Qiu R., Liu M., Guo J., Li Z., Tan W., Rasmussen A., Lessard C.J., Sivils K.L., Hahn B.H., Grossman J.M., Kamen D.L., Gilkeson G.S., Bae S.C., Gaffney P.M., Shen N., Tsao B.P.* (2017) A missense variant in NCF1 is associated with susceptibility to multiple autoimmune diseases. Nat Genet 49 (3): 433–437.

110. *Dhillon S.S., Fattouh R., Elkadri A., Xu W., Murchie R., Walters T., Guo C., Mack D., Huynh H.Q., Baksh S., Silverberg M.S., Griffiths A.M., Snapper S.B., Brumell J.H., Muise A.M.* (2014) Variants in nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase complex components determine susceptibility to very early onset inflammatory bowel disease. Gastroenterology 147 (3): 680–689.

111. *Nauseef W.M., Clark R.A.* (2019) Intersecting Stories of the Phagocyte NADPH Oxidase and Chronic Granulomatous Disease. Methods Mol Biol 1982: 3–16.

112. *Courtney P.A., Crockard A.D., Williamson K., Irvine A.E., Kennedy R.J., Bell A.L.* (1999) Increased apoptotic peripheral blood neutrophils in systemic lupus erythematosus: relations with disease activity, antibodies to double stranded DNA, and neutropenia. Ann Rheum Dis 58 (5): 309–314.

113. *Harper L., Cockwell P., Adu D., Savage C.O.* (2001) Neutrophil priming and apoptosis in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis. Kidney Int 59 (5): 1729–1738.

114. *Chen M.F., Chen J.C., Chiu D.F., Ng C.J., Shyr M.H., Chen H.M.* (2001) Prostacyclin analogue (OP-2507) induces delayed ex vivo neutrophil apoptosis and attenuates reperfusion-induced hepatic microcirculatory derangement in rats. Shock 16 (6): 473–478.

115. *Chitnis D., Dickerson C., Munster A.M., Winchurch R.A.* (1996) Inhibition of apoptosis in polymorphonuclear neutrophils from burn patients. J Leukoc Biol 59 (6): 835–839.

116. *Ertel W., Keel M., Infanger M., Ungethüm U., Steckholzer U., Trentz O.* (1998) Circulating mediators in serum of injured patients with septic complications inhibit neutrophil apoptosis through up-regulation of protein-tyrosine phosphorylation. J. Trauma 44 (5): 767–775.

117. *Jimenez M.F., Watson R.W., Parodo J., Evans D., Foster D., Steinberg M., Rotstein O.D., Marshall J.C.* (1997) Dysregulated expression of neutrophil apoptosis in the systemic inflammatory response syndrome. Arch Surg 132 (12): 1263–1269.

118. *Inaba M., Takahashi T., Kumeda Y., Kato T., Hato F., Yutani Y., Goto H., Nishizawa Y., Kitagawa S.* Increased basal phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and reduced responsiveness to inflammatory cyto-

kines in neutrophils from patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 26 (1): 52–60. 2008

119. *Elliott E.R., Van Ziffle J.A., Scapini P., Sullivan B.M., Locksley R.M.*, Lowell (2011) CA Deletion of Syk in neutrophils prevents immune complex arthritis. J Immunol 187 (8): 4319–4330.
120. *Fudala R., Krupa A., Matthay M.A., Allen T.C., Kurdowska A.K.* (2007) Anti-IL-8 autoantibody:IL-8 immune complexes suppress spontaneous apoptosis of neutrophils. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 293 (2): L364–L374.
121. *Raison C.L., Lowry C.A., Rook G.A.* (2010) Inflammation, sanitation, and consternation: loss of contact with coevolved, tolerogenic microorganisms and the pathophysiology and treatment of major depression. Arch Gen Psychiatry 67 (12): 1211–1224.
122. *Черных Е.И., Языков К.Г., Семке В.Я.* (2002) Апоптоз лейкоцитов периферической крови, индуцированный действием гипертермии и преднизолона, у лиц с расстройством адаптации. Бюл. экспер. биологии и медицины 134 (12): 617–619. [Chernykh E.I., Yazykov K.G., Semke V.Y. (2002) Apoptosis in peripheral blood leukocytes induced by hyperthermia and prednisolone in patients with dysadaptation. Bull Exp Biol Med 134 (6): 531–533.]
123. *Zhang X., Moilanen E., Kankaanranta H.* (2001) Beclomethasone, budesonide and fluticasone propionate inhibit human neutrophil apoptosis. Eur J Pharmacol 431 (3): 365–371.
124. *Perttunen H., Moilanen E., Zhang X., Barnes P.J., Kankaanranta H.* (2008) Beta2-agonists potentiate corticosteroid-induced neutrophil survival. COPD 5 (3): 163–169.
125. *Stankova J., Turcotte S., Harris J., Rola-Pleszczynski M.* (2002) Modulation of leukotriene B4 receptor-1 expression by dexamethasone: potential mechanism for enhanced neutrophil survival J Immunol 168 (7): 3570–3576.
126. *Ruiz L.M., Bedoya G., Salazar J., García de O.D., Patiño P.J.* (2002) Dexamethasone inhibits apoptosis of human neutrophils induced by reactive oxygen species. Inflammation 26 (5): 215–222.
127. *Ronchetti S., Ricci E., Migliorati G., Gentili M., Riccardi C.* (2018) How Glucocorticoids Affect the Neutrophil Life. Int J Mol Sci 19 (12): 4090. https://doi.org/10.3390/ijms19124090
128. *Pace T.W., Hu F., Miller A.H.* (2007) Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression. Brain Behav Immun 21 (1): 9–19.
129. *Heasman S.J., Giles K.M., Ward C., Rossi A.G., Haslett C., Dransfield I.* (2003) Glucocorticoid-mediated regulation of granulocyte apoptosis and macrophage phagocytosis of apoptotic cells: implications for the resolution of inflammation. J Endocrinol 178 (1): 29–36.
130. *Sugimoto M.A., Vago J.P., Teixeira M.M., Sousa L.P.* (2016) Annexin A1 and the Resolution of Inflammation: Modulation of Neutrophil Recruitment, Apoptosis, and Clearance. J Immunol Res 2016: 8239258. https://doi.org/10.1155/2016/8239258
131. *Chellappan D.K., Yee L.W., Xuan K.Y., Kunalan K., Rou L.C., Jean L.S., Ying L.Y., Wie L.X., Chellian J., Mehta M., Satija S., Singh S.K., Gulati M., Dureja H., Da Silva M.W., Tambuwala M.M., Gupta G., Paudel K.R., Wadhwa R., Hansbro P.M., Dua K.* (2020) Targeting neutrophils using novel drug delivery systems in chronic respiratory diseases. Drug Dev Res 81 (4): 419–436.
132. *Rossi A.G., Sawatzky D.A., Walker A., Ward C., Sheldrake T.A., Riley N.A., Caldicott A., Martinez-Losa M., Walker T.R., Duffin R., Gray M., Crescenzi E., Martin M.C., Brady H.J., Savill J.S., Dransfield I., Haslett C.* Cyclin-dependent kinase inhibitors enhance the resolution of inflammation by promoting inflammatory cell apoptosis. Nat Med 12 (9): 1056–1064. 2006
133. *Koedel U., Frankenberg T., Kirschnek S., Obermaier B., Häcker H., Paul R., Häcker G.* (2009) Apoptosis is essential for neutrophil functional shutdown and determines tissue damage in experimental pneumococcal meningitis. PLoS Pathog 5 (5): e1000461. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000461
134. *Sousa L.P., Lopes F., Silva D.M., Tavares L.P., Vieira A.T., Rezende B.M., Carmo A.F., Russo R.C., Garcia C.C., Bonjardim C.A., Alessandri A.L., Rossi A.G., Pinho V., Teixeira M.M.* (2010) PDE4 inhibition drives resolution of neutrophilic inflammation by inducing apoptosis in a PKA-PI3K/Akt-dependent and NF-kappaB-independent manner. J Leukoc Biol 87 (5): 895–904.
135. *McGrath E.E., Marriott H.M., Lawrie A., Francis S.E., Sabroe I., Renshaw S.A., Dockrell D.H., Whyte M.K.* (2011) TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) regulates inflammatory neutrophil apoptosis and enhances resolution of inflammation. J Leukoc Biol 90 (5): 855–865.
136. *Meijer L., Nelson D.J., Riazanski V., Gabdoulkhakova A.G., Hery-Arnaud G., Le Berre R., Loaëc N., Oumata N., Galons H., Nowak E., Gueganton L., Dorothée G., Prochazkova M., Hall B., Kulkarni A.B., Gray R.D., Rossi A.G., Witko-Sarsat V., Norez C., Becq F., Ravel D., Mottier D., Rault G.* (2016) Modulating Innate and Adaptive Immunity by (R)-Roscovitine: Potential Therapeutic Opportunity in Cystic Fibrosis. J Innate Immun 8 (4): 330–349.
137. *Brostjan C., Oehler R.* (2020) The role of neutrophil death in chronic inflammation and cancer. Cell Death Discov 6: 26. https://doi.org/10.1038/s41420-020-0255-6
138. *Miles K., Clarke D.J., Lu W., Sibinska Z., Beaumont P.E., Davidson D.J., Barr T.A., Campopiano D.J., Gray M.* (2009) Dying and necrotic neutrophils are anti-inflammatory secondary to the release of alpha-defensins. J Immunol 183 (3): 2122–2132.
139. *Ren Y., Xie Y., Jiang G., Fan J., Yeung J., Li W., Tam P.K., Savill J.* (2008) Apoptotic cells protect mice against lipopolysaccharide-induced shock. J Immunol 180 (7): 4978–4985.
140. *Lawrence S.M., Corriden R., Nizet V.* (2020) How Neutrophils Meet Their End. Trends Immunol 41 (6): 531–544.
141. *Kroemer G., Levine B.* (2008) Autophagic cell death: the story of a misnomer. Nat Rev Mol Cell Biol 9 (12): 1004–1010.
142. *Jorgensen I., Rayamajhi M., Miao E.A.* (2017) Programmed cell death as a defence against infection. Nat Rev Immunol 17 (3): 151–164.

143. *Germic N., Frangez Z., Yousefi S., Simon H.U.* (2019) Regulation of the innate immune system by autophagy: neutrophils, eosinophils, mast cells, NK cells. Cell Death Differ 26 (4): 703–714.

144. *Chargui A., Cesaro A., Mimouna S., Fareh M., Brest P., Naquet P., Darfeuille-Michaud A., Hébuterne X., Mograbi B., Vouret-Craviari V., Hofman P.* (2012) Subversion of autophagy in adherent invasive Escherichia coli-infected neutrophils induces inflammation and cell death. PLoS One 7 (12): e51727. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051727

145. *Ullah I., Ritchie N.D., Evans T.J.* (2017) The interrelationship between phagocytosis, autophagy and formation of neutrophil extracellular traps following infection of human neutrophils by Streptococcus pneumoniae. Innate Immun 23 (5): 413–423.

146. *Yousefi S., Perozzo R., Schmid I., Ziemiecki A., Schaffner T., Scapozza L., Brunner T., Simon H.U.* (2006) Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis. Nat Cell Biol 8 (10): 1124–1132.

147. *Larochelle B., Flamand L., Gourde P., Beauchamp D., Gosselin J.* (1998) Epstein-Barr virus infects and induces apoptosis in human neutrophils. Blood 92 (1): 291–299.

148. *Crepaldi L., Gasperini S., Lapinet J.A., Calzetti F., Pinardi C., Liu Y., Zurawski S., de Waal Malefyt R., Moore K.W., Cassatella M.A.* (2001) Up-regulation of IL-10R1 expression is required to render human neutrophils fully responsive to IL-10. J Immunol 167 (4): 2312–2322.

149. *Hotta K., Niwa M., Hara A., Ohno T., Wang X., Matsuno H., Kozawa O., Ito H., Kato K., Otsuka T., Matsui N., Uematsu T.* (2001) The loss of susceptibility to apoptosis in exudated tissue neutrophils is associated with their nuclear factor-kappa B activation. Eur J Pharmacol 433 (1): 17–27.

MOLECULAR MECHANISMS FOR REGULATION OF NEUTROPHIL APOPTOSIS AT NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS

E. M. Noseykina[a], I. A. Schepetkin[a,b] and , and D. N. Atochin[a,c,#]

[a] *Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia*

[b] *Department of Microbiology and Immunology, Montana State University, Bozeman, MT, USA*

[c] *Cardiovascular Research Center, Cardiology Division, Massachusetts General Hospital, Charlestown, MA, USA*

[#] *e-mail: atochin@cvrc.mgh.harvard.edu*

Neutrophils are one of the main cells of innate immunity, performing a key effector and regulatory function in the development of the human inflammatory response. Apoptotic forms of neutrophils are important in regulating the intensity of inflammation and restoring tissue homeostasis. This review summarizes current data on the molecular mechanisms of modulation of neutrophil apoptosis by the main regulatory factors of the inflammatory response – cytokines, integrins, and structural components of bacteria. Disturbances in neutrophil apoptosis under stress are also considered, molecular markers of changes in neutrophil lifespan associated with various diseases and pathological conditions are presented, and data on pharmacological agents for modulating apoptosis as potential therapeutics are also discussed.

Keywords: neutrophils, apoptosis, inflammation, stress, innate immunity, cytokines, cell life span

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 202–223

ОБЗОРЫ

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА МЕЛАТОНИНА, ПРОЛАКТИНА, ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ И ГОРМОНОВ НАДПОЧЕЧНИКОВ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ: МЕТА-АНАЛИЗ

© 2021 г. Н. В. Кузьменко[1,2,*], В. А. Цырлин[1], М. Г. Плисс[1,2]

[1] *Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ, 197341 Санкт-Петербург, Россия*

[2] *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, 197022 Санкт-Петербург, Россия*

**e-mail: nat.kuzmencko2011@yandex.ru*

Поступила в редакцию 17.09.2020 г.
После доработки 28.01.2021 г.
Принята к публикации 28.01.2021 г.

Сегодня большинство исследователей считают, что цирканнуальные колебания в функционировании организма человека связаны не столько с колебаниями уровня мелатонина, сколько с изменениями температуры воздуха. Цель данной работы – с помощью мета-анализа публикаций исследовать сезонную динамику мелатонина, пролактина, половых гормонов и гормонов надпочечников у здоровых людей; на основании результатов мета-анализа сделать вывод о влиянии фотопериода и температуры воздуха на сезонные изменения в функционировании организма современного человека. Нами с помощью программы Review Manager 5.3 был проведен мета-анализ 31 панельного и 12 кросс-секциональных исследований, посвященных сезонной динамике циркулирующих гормонов. В результате проведенного мета-анализа было выявлено увеличение уровня циркулирующего норадреналина и альдостерона зимой по сравнению с летом, что наряду с установленным ранее увеличением активности тиреоидных гормонов зимой, подтверждает существенное влияние цирканнуальных колебаний температуры воздуха на гормональный статус современного человека. Однако поскольку в ряде исследований была показана сезонная динамика мелатонина, а мета-анализ выявил значимое увеличение весной по сравнению с осенью среднего за сутки уровня пролактина у женщин репродуктивного возраста, нельзя полностью исключить влияние фотопериода на современного человека. Гормональные изменения, в свою очередь, могут вызвать сезонные изменения физиологических параметров и репродуктивной функции, а также повлиять на развитие и обострение отдельных патологий.

Ключевые слова: мелатонин, пролактин, кортизол, катехоламины, альдостерон, тестостерон, эстрадиол, сезон

DOI: 10.31857/S0044452921030062

ВВЕДЕНИЕ

Смена сезонов сопровождается изменением длины дня и метеорологических условий. Основная гормональная перестройка общего метаболизма у позвоночных происходит по оси гипофиз–щитовидная железа и запускается изменением уровня мелатонина [1, 2]. Так, уменьшение фотопериода ассоциировано с угнетением синтеза тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ) в pars tuberalis, повышением активности дейодиназы 3, участвующей в превращении тироксина в неактивный реверсивный трийодтиронин. В противоположность, увеличение фотопериода вызывает увеличение ТТГ и активности дейодиназы 2, катализирующей превращение тироксина в активный трийодтиронин. Данная адаптационная стратегия позволяет животным накапливать жировые отложения летом и снижать метаболизм зимой при нехватке кормов [1, 2]. Установлено, что, помимо фотопериода, на активность тиреоидных гормонов влияют температура воздуха и рацион питания. Если уменьшение количества кормов зимой способствуют снижению активности тиреоидных гормонов, то низкие температуры, наоборот, увеличивают их активность [3]. Некоторые исследователи предполагают, что видовые вариации в выраженности сезонных изменений связаны не с разной чувствительностью циркадного профиля мелатонина к изменению фотопериода, а с изменчивостью последовательности элемента D в промоторе β-ТТГ [1].

Продолжительность ночной секреции мелатонина регулирует также синтез пролактина лактотропными клетками аденогипофиза. Известно, что у млекопитающих концентрация пролактина максимальна летом и минимальна зимой и не зависит

от сезона размножения [4, 5]. Мелатонин является антиэстрогенным гормоном и замедляет развитие фолликул, а у заводчиков “длинного дня” снижает уровень тестостерона и объем семенников [4, 6]. Пролактин, напротив, стимулирует овуляцию, способствует имплантации, развитию плаценты и молочных желез во время беременности, а также регулирует послеродовую лактацию [4]. Однако у заводчиков “короткого дня” мелатонин стимулирует работу гонад, а пролактин угнетает репродукцию [5, 6].

Кроме того, у позвоночных отмечается сезонная динамика кортизола. В течение года у животных повышение уровня глюкокортикоидов часто сопряжено с периодом размножения [7]. Кортизол имеет циркадный профиль, акрофаза которого сдвигается в ответ на изменение фотопериода, но при этом концентрация циркулирующего кортизола может оставаться без существенных изменений [8, 9]. Усиление выработки кортизола ассоциировано со стрессом. Наблюдения за животными показали, что ограничение в пище, понижение и повышение амбиентной температуры сопровождаются увеличением уровня кортизола. Особенно сильно повышается уровень кортизола на острый кратковременный стресс (24 ч и менее), а не на продолжительный [10]. Предполагают, что основная роль глюкокортикоидов при стрессовых ситуациях заключается в их участии в метаболических эффектах и мобилизации энергии, а также во влиянии на поведение [7].

Известно, что понижение температуры воздуха вызывает увеличение уровня катехоламинов и активности симпатической нервной системы, что способствует сужению сосудов кожи и поддержанию внутренней температуры тела [11, 12]. Отдельные исследования выявили у млекопитающих, не впадающих в зимнюю спячку, увеличение уровня катехоламинов в холодный сезон [13]. Кроме того, многочисленные экспериментальные исследования продемонстрировали активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы на воздействие холода [11, 12]. Увеличение концентрации норадреналин, ангиотензин II и альдостерона способствуют подъему артериального давления и тахикардии [11, 12]. Однако в естественной среде у животных эти реакции могут быть нивелированы. Так, зимой у многих видов наблюдается не тахикардия, а существенная брадикардия или даже гибернация [14–16]. Этот эффект связан, главным образом, с уменьшением активности тиреоидных гормонов под действием мелатонина и снижения калорийности пищи.

Сезонные изменения в гормональном статусе воздействуют не только на скорость обмена веществ и на репродуктивную функцию, но также корректируют работу иммунной системы в соответствии к внешним условиям. Эти изменения координируются и модулируются мелатонином, который сам обладает выраженным иммуностимулирующим действием, ослабляя воспаление и влияя на количество и дифференцировку лимфоцитов. Помимо мелатонина другие гормоны также вносят вклад в иммунный ответ организма. Так, тиреоидные гормоны и дейодиназы модулируют функцию лимфоидной ткани, глюкокортикоиды подавляют воспаление, пролактин регулирует врожденные иммунные функции через лейкоциты и лимфоциты, которые вырабатывают пролактин при активации иммунитета, а катехоламины и половые гормоны играют тонкую вспомогательную роль в модуляции иммунных реакций [17]. В целом у млекопитающих иммунная функция усиливается зимой, что позволяет им пережить неблагоприятный период.

Среднестатистический современный человек, в отличие от других млекопитающих, активно использует искусственное освещение, отопление, кондиционирование и обычно не испытывает периодов голода. Не смотря на то что человек не является видом с ярко выраженной сезонностью в репродукции, тем не менее, замечено, что и у людей имеют место изменения в функционировании организма, связанные с сезоном. Например, зимой по сравнению с летом наблюдаются повышение артериального давления и увеличение количества абдоминального жира, усиливается иммунитет [17–19]. Большинство исследователей считают, что цирканнуальные колебания в функционировании организма человека связаны не столько с колебаниями уровня мелатонина, сколько с изменениями температуры воздуха [18]. Это подтверждают и результаты проведенного нами ранее мета-анализа, который показал, что у современного среднестатистического человека уровень общего трийодтиронина (Т3) выше зимой, чем летом, а уровень ТТГ выше зимой по сравнению с другими сезонами [3]. Данная динамика ТТГ и тиреоидных гормонов противоположна той, что наблюдается у многих млекопитающих в естественной среде обитания. Цель данной работы – с помощью мета-анализа публикаций исследовать сезонную динамику мелатонина, пролактина, половых гормонов и гормонов надпочечников у здоровых людей; на основании результатов мета-анализа сделать вывод о влиянии фотопериода и температуры воздуха на сезонные изменения в функционировании организма современного человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор публикаций

Мета-анализ был выполнен в соответствии с рекомендациями PRISMA (http://www.prisma-statement.org). Поиск публикаций осуществлялся независимо двумя исследователями в базах PubMed,

Рис. 1. Блок-схема в соответствии с Рекомендационными предписаниями для системных обзоров и мета-анализов (http://prisma-statement.org/).

Scopus, Google Scholar. Поиск публикаций проходил в июне-июле 2020 г. на английском и русском языках и не был ограничен годами публикаций. При поиске использовались следующие ключевые слова: “мелатонин”, “кортизол”, “катехоламины”, “норадреналин”, “адреналин”, “альдостерон”, “ренин”, “тестостерон”, “эстрадиол”, “пролактин”, “половые гормоны”, “гормоны”, “сезон”. Был применен фильтр “исследования на людях”. Для нашего мета-анализа отбирались панельные и кросс-секциональные исследования. Дизайн работы устанавливался из описания методики. При отборе публикаций учитывались этические и методологические стандарты проведения исследований биологических ритмов [3, 20].

Нами были отобраны публикации, в которых исследовалась сезонная динамика в крови уровней мелатонина, пролактина и половых гормонов (тестостерона и эстрадиола), гормонов надпочечников (кортизола, норадреналина, адреналина, альдостерона), ренина. Поскольку гормоны имеют выраженный циркадный профиль, то учитывалось время забора крови. Исследования, в которых не было указано время забора крови или это время было некорректным, в мета-анализ не включались. Отбирались только исследования, проведенные на здоровых людях, не находящихся на какой-либо терапии. Пол и возраст людей, участвующих в исследованиях, при отборе публикаций не учитывались, но исключались работы с участием беременных женщин и детей. Не использовались исследования с участием сезонных рабочих, полярников и других случаев временного нахождения людей в климатических условиях, отличных от региона их постоянного проживания. Не включались исследования с участием спортсменов, поскольку сезон тренировок и соревнований мог оказать существенное влияние на уровень гормонов. Были исключены исследования на людях, работающих в ночную смену. Также были исключены исследования, проведенные в горном климате (рис. 1).

Для мета-анализа из публикаций были извлечены данные по уровню мелатонина в момент акрофазы (ночью) и средний уровень за сутки; данные

по уровню пролактина в момент акрофазы (ночью), средний уровень за сутки и утренние значения; данные по уровню кортизола утром (акрофаза) и средний уровень за сутки; для остальных гормонов исследовались только их утренние значения. После извлечения из публикаций данных по исследуемым гормонам результаты были переведены в одинаковые единицы измерения с помощью online калькуляторов (http://unitslab.com/ru/ и http://www.endmemo.com/medical/unitconvert/). Были использованы следующие единицы измерения: мелатонин – пг/мл; пролактин – нг/мл; тестостерон – нмоль/л; эстрадиол – пмоль/л; кортизол– мкг/дл; норадреналин, адреналин и альдостерон– пг/мл; активность ренина плазмы (АРП) – нг/мл · час. Статистический анализ для всех гормонов, кроме кортизола, пролактина, тестостерона и эстрадиола был проведен без учета пола. Сезонная динамика кортизола исследовалась без учета пола, а также отдельно для мужчин и женщин. Пролактин исследовался отдельно для мужчин и для женщин репродуктивного возраста. Сезонная динамика тестостерона была проанализирована только для мужчин, эстрадиола – только для женщин детородного возраста. Эстрадиол у женщин был исследован только в фолликулярную фазу менструального цикла (с целью стандартизации).

Также была исследована зависимость сезонной динамики уровня утреннего кортизола от географической широты и цирканнуальной динамики метеорологических факторов (температуры, атмосферного давления, относительной влажности, парциальной плотности кислорода в воздухе). Если в статье были представлены метеорологические данные, то мы использовали их. В противном случае, используя архивные данные, мы проводили сами расчет средних значений температуры воздуха, атмосферного давления на уровне местности, относительной влажности воздуха и парциальной плотности кислорода в воздухе, как описано в работах [3, 21]. В зависимости от цирканнуальной амплитуды изменения метеорологического фактора в регионе публикации при проведения мета-анализа делились на две субгруппы: с максимальной и минимальной амплитудой изменения метеофактора.

Статистический анализ

Мета-анализ результатов исследований был проведен с помощью статистической программы Review Manager 5.3 (Cochrane Library). Для анализа был использован inverse variance тест (Mean Difference). Гетерогенность включенных в мета-анализ исследований устанавливали по критерию I^2. Выбор модели фиксированных или рандомизированных эффектов осуществлялся в соответствии с рекомендациями M. Borenstein и соавт. [22]. Для оценки статистической значимости суммарных результатов применялся Z-тест. Доверительный интервал – 95%. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего было найдено 2879 публикаций, из них 562 обзора. Для мета-анализа было отобрано 40 публикаций: 31 панельное и 12 кросс-секциональных исследований [23–63] (рис. 1). В публикации N. Koon [38] было одновременно проведено два исследования – панельное и кросс-секциональное. В публикации [32, 53] и были включены панельные исследования в двух городах. Характеристики всех исследований представлены в табл. 1.

В мета-анализ не было включено несколько исследований вследствие того, что там не было указано время сбора проб крови, либо оно было некорректным [64–67]. По этой же причине из работы G.Y. Nicolau и соавт. [47] были извлечены только данные по сезонной динамике кортизола, а из работы A. Reinberg [52] были взяты только данные по пролактину (мезор за сутки).

Сезонная динамика мелатонина

Исследования сезонной динамики мелатонина у людей были проведены в регионах, находящихся между 65 и 28 географическими широтами (климат от субарктического до тропического). По результатам мета-анализа сезонная динамика мелатонина у современного человека не выражена (рис. 2 и табл. 2). Увеличение среднего за сутки уровня мелатонина зимой по сравнению с летом было значимо только в регионах, расположенных в области высоких (65° с.ш.) и низких широт (28° с.ш.) (рис. 2).

В экспериментах с участием молодых здоровых добровольцев, которые были помещены в искусственно созданные условия длинного и короткого дня, было обнаружено небольшое увеличение уровня мелатонина в момент акрофазы при длинном дне [68]. Кроме того, индивидуальные особенности могут оказать влияние на циркадный профиль мелатонина и его сезонное изменение [25, 36]. Даже среди чувствительных к фотопериоду хомяков встречаются особи, не реагирующие изменением уровня мелатонина на длинный и короткий день [69]. Также старение вызывает изменение сезонной динамики мелатонина [58], что связано с возрастным угнетением синтеза мелатонина [70]. Кроме того, исследования на домашних свиньях показали, что хотя эти животные и реагировали на короткий день увеличением уровня мелатонина, однако резкая смена короткого дня на длинный и обратно отменяла эту реакцию [71]. В нескольких исследованиях сообщается о запаздывании выработки мелатонина у людей зимой по сравнению с летом [35, 72]. А в исследовании в Новосибирске (55° с.ш.) заметили, что у людей зимой по сравне-

Таблица 1. Публикации, включенные в мета-анализ

Публикации Publications	Период исследования Study period	Дизайн Design	Биохимические показатели Biochemical parameters	Время сбора проб Sample collection time	Общая выборка Total sample	Сред. Возр. Average Age	Пол, % мужчин Sex, % of men	Сезоны Seasons	Место исследования, географические координаты Research location, geographic coordinates
Aghajanian N. et al. 2009 [23]	–	КС CS	К, Т C, T	утро morning	41/46	40	100	4	Москва, Россия, 55.4° с.ш., 37.4° в.д., 200 м н/м Moscow, Russia, 55.4°N, 37.4°W, 200 m a.s.l.
Anthanont P., 2017 [24]	1995–2012	КС CS	НА, А NE, E	утро morning	69/91	41	54	2	Рочестер, США, 40° с.ш. 92.2°' з.д., 312 м н/м Rochester, USA, 40°N, 92°27' W, 312 m a.s.l.
Arendt J., 1979 [25]	1977–1978	П P	М M	8–24	11	–	55	4	Базель, Швейцария, 47.3° с.ш., 7.3° в.д., 317 м н/м Basel, Switzerland, 47.3°N, 7.4°W, 317 m a.s.l.
Dabbs J.M., 1990 [26]	1985–1986	КС CS	Т N	утро morning	995/1555	38	100	4	США USA
Del Ponte A., 1984 [27]	–	П P	К C	сутки 24 h	4	26	100	4	Кьети, Италия, 42.2° с.ш., 14.1° в.д., 330 м н/м Chieti, Italy, 42.2° N, 14.1° E, 330 m a.s.l.
Depue R., 1989 [28]	–	П P	ПРЛ PRL	утро morning	14	28	0	2	Миннеаполис, США, 44.5° с.ш. 93.1° з.д., 264 м н/м Minneapolis, USA, 44.5°N, 93.1°E, 264 m a.s.l.
Djursing H., 1981 [29]	–	П P	ПРЛ PRL	утро morning	18	38	50*	4	Копенгаген, Дания, 55.4° с.ш., 12.3° в.д., 14 м н/м Copenhagen, Denmark, 55.4° N, 12.3° E, 14 m a.s.l.
Hadlow N.C., 2014 [30]	2000–2012	КС CS	К C	утро morning	6676/7154	45.9	35	4	Перт, Австралия, 31.6° ю.ш,. 115.5° в.д., 2 м н/м Perth, Australia, 31.6° S ,115.5° W, 2 m a.s.l.
Hattori T, 2015 [31]	2010–2011	П P	НА, А, К, АРП, АЛ NE, E, K, PRA, AL	утро morning	79	37.6	100	2	Сендай, Япония, 38.1° с.ш., 140.5° в.д., 57 м н/м Sendai, Japan, 38.1°N, 140.5°W, 57 m a.s.l.
Haus E., 1980 (1) [32]	1978	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 h	13	35	0	4	Фукуока, Япония, 33.3° с.ш., 130.2° в.д., 685 м н/м Fukuoka, Japan, 33.3 ° N, 130.2 ° E, 685 m a.s.l.
Haus E., 1980 (2) [32]	1978	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 h	14	35	0	4	Миннеаполис, США, 44.5° с.ш. 93.1° з.д., 264 м н/м Minneapolis, USA, 44.5°N, 93.1°E, 264 m a.s.l.
Holdaway I.M., 1991 [33]	–	П P	М M	сутки 24 h	10	37	0	2	Окленд, Новая Зеландия, 36.5° ю.ш., 174.5° в.д., 196 м н/м Auckland, New Zealand, 36.5° S, 174.5°W, 196 m a.s.l.
Holdaway I.M., 1997 [34]	–	П P	М, К, ПРЛ M, C, PRL	сутки 24 h	10	37	0	2	Окленд, Новая Зеландия, 36.5° ю.ш., 174.5° в.д., 196 м н/м Auckland, New Zealand, 36.5° S, 174.5°W, 196 m a.s.l.
Honma K., 1992 [35]	1987–1988	П P	М M	сутки 24 h	10	24	100	4	Саппоро, Япония, 43° с.ш., 141° в.д., 17 м н/м Sapporo, Japan, 43°N, 141°W, 17 m a.s.l.
Illnerová H., 1985 [36]	–	П P	М M	17–9	5	38.5	100	2	Прага, Чехия, 50° с.ш., 14.2° в.д., 288 м н/м Prague, Czech Republic, 50°N, 14.2°W, 288 m a.s.l.

Таблица 1. Продолжение

Публикации Publications	Период исследования Study period	Дизайн Design	Биохимические показатели Biochemical parameters	Время сбора проб Sample collection time	Общая выборка Total sample	Сред. Возр. Average Age	Пол, % мужчин Sex, % of men	Сезоны Seasons	Место исследования, географические координаты Research location, geographic coordinates
Kauppila A., 1987 [37]	–	П P	М, ЭС, ПРЛ M, ES, PRL	сутки 24 h	21	32	0	2	Оулу, Финляндия, 65° с.ш., 25.3° в.д. , 15 м н/м Oulu, Finland, 65°N, 25.3°W , 15 m a.s.l.
Koon N., 1980 (1) [38]	1978–1979	П P	К C	утро morning	15	42	100	2	Саппоро, Япония, 43° с.ш., 141° в.д., 17 м н/м Sapporo, Japan, 43°N, 141°W, 17 m a.s.l.
Koon N., 1980 (2) [38]	1978–1979	КС CS	К C	утро morning	49/58	42	100	2	Саппоро, Япония, 43° с.ш., 141° в.д., 17 м н/м Sapporo, Japan, 43°N, 141°W, 17 m a.s.l.
Koroteeva T., 2010 [39]	–	КС CS	К C	утро morning	90/83	25	0	4	Минеральные Воды, Россия, 44° с.ш., 43° в.д., 570 м у/м Mineralnye Vody, Russia, 44°N, 43°W, 570 m a.s.l.
Kruse H., 2002 [40]	–	П P	НА, А NE, E	утро morning	10	39	–	4	Ганновер, Германия, 52.2° с.ш., 9.4° в.д., 55 м н/м Hanover, Germany, 52.2 ° N, 9.4 ° E, 55 m asl
Lewy H., 2007 [41]	1976–1978	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 hours	26	35	0	4	Тель-Авив, Израиль, 32° с.ш., 34.5° в.д., 5 м н/м Tel Aviv, Israel, 32° N, 34.5° W, 5 m a.s.l.
Lundberg K., 2007 [42]	–	П P	К, ЭС M, ES	утро morning	19	23	47*	2	Линчёпинг, Швеция, 58.2° с.ш., 15.3° в.д., 45 м н/м Linkoping, Sweden, 58.2°N, 15.3°W, 45 m a.s.l.
Maes M., 1997 [43]	1991–1992	П P	К, Т, ПРЛ C, T, PRL	утро morning	26	39	50*	4	Антверпен, Бельгия, 51.2° с.ш., 4.5° в.д., 10 м н/м Antwerp, Belgium, 51.2°N, 4.5°W, 10 m a.s.l.
Martikainen H., 1985 [44]	–	П P	Т, ПРЛ T, PRL	утро morning	24	31	100	4	Оулу, Финляндия, 65° с.ш., 25.3° в.д. , 15 м н/м Oulu, Finland, 65°N, 25.3°W , 15 m a.s.l.
Morera A.L., 2007 [45]	–	П P	М M	12–2	34	35.6	100	2	Санта-Крус-де-Тенерифе, Испания, 28.3° с.ш., 16.1° з.д., 4 м н/м Santa Cruz de Tenerife, Spain, 28.3°N, 16.1°E, 4 m a.s.l.
Nagata H., 1976 [46]	–	П P	К C	утро morning	53	32	100	2	Нагано, Япония, 36.1° с.ш., 137.6° в.д., 593 м н/м Nagano, Japan, 36.1°N, 137.6°W., 593 m a.s.l.
Nicolau G.Y., 1984 [47]	–	П P	К C	сутки 24 h	32	75	44*	4	Бухарест, Румыния, 44.2° с.ш., 26° в.д., 75 м н/м Bucharest, Romania, 44.2°N, 26°W, 75 m a.s.l.
Pääkkönen T., 2008 [48]	–	КС CS	М M	сутки 24 h	7/5	23	100	2	Оулу, Финляндия, 65° с.ш., 25.3° в.д. , 15 м н/м Oulu, Finland, 65°N, 25.3°W , 15 m a.s.l.
Pham D.D., 2020 [49]	2009–2017	КС CS	К C	утро morning	169/148	45	44*	4	Сеул, Корея, 37.3° с.ш. 127° в.д., 38 м н/м Seoul, Korea, 37.3 ° N 127 ° E, 38 m a.s.l.
Radke K.J., 2010 [50]	–	П P	НА, А, АРП, АЛ NE, E, PRA, AL	утро morning	29	40	79	4	Буффало, Нью-Йорк,США, 42.5° с.ш. 78.5° з.д., 191 м н/м Buffalo, New York, USA, 42.5° N, 78.5°E, 191 m a.s.l.

Таблица 1. Окончание

Публикации Publications	Период исследования Study period	Дизайн Design	Биохимические показатели Biochemical parameters	Время сбора проб Sample collection time	Общая выборка Total sample	Сред. Возр. Average Age	Пол, % мужчин Sex, % of men	Сезоны Seasons	Место исследования, географические координаты Research location, geographic coordinates
Radysh I.V., 2011 [51]	–	КС CS	ЭС, ПРЛ, ES, PRL	утро morning	51/47	25	0	4	Минеральные Воды, Россия, 44° с.ш., 43° в.д., 570 м у/м Mineralnye Vody, Russia, 44°N, 43°W, 570 m a.s.l.
Reinberg A., 1978 [52]	–	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 h	5	28	100	4	Париж, Франция, 48.5° с.ш., 2.2° в.д., 33 м н/м Paris, France, 48.5°N, 2.2°E, 33 m a.s.l.
Ruhayel Y., 2007 (1) [53]	2001–2002	П P	Т T	утро morning	113	30	100	2	Осло, Норвегия, 59.5° с.ш., 10.4° в.д., 23 м н/м Oslo, Norway, 59.5°N, 10.4°W, 23 m a.s.l.
Ruhayel Y., 2007 (2) [53]	2001–2002	П P	Т T	утро morning	92	30	100	2	Тромсе, Норвегия, 69.4° с.ш., 18.6° в.д., 13 м н/м Tromso, Norway, 69.4°N, 18.6°W, 13 m a.s.l.
Smals A., 1976 [54]	1974–1975	П P	Т T	утро morning	15	–	100	4	Неймеген, Нидерланды, 51.5° с.ш., 5.5° в.д., 29 м н/м Nijmegen, the Netherlands, 51°N, 5.5°W, 29 m a.s.l.
Tkachev A.V., 1987 [55]	–	КС CS	К C	утро morning	108/86	33	36*	2	Нарьян-Мар, Россия, 67.4° с.ш., 53° в.д., 6.5 м н/м Naryan-mar, Russia, 67.4°N, 53°E, 6.5 m a.s.l.
Touitou Y., 1983 [56]	–	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 h	19	52	68	4	Париж, Франция, 48.5° с.ш., 2.2° в.д., 33 м н/м Paris, France, 48.5°N, 2.2°E, 33 m a.s.l.
Touitou Y., 1983 (2) [57]	–	П P	К C	сутки 24 h	19	52	68*	4	Париж, Франция, 48.5° с.ш., 2.2° в.д., 33 м н/м Paris, France, 48.5°N, 2.2°E, 33 m a.s.l.
Touitou Y., 1984 [58]	–	П P	М M	сутки 24 h	19	52	68	4	Париж, Франция, 48.5° с.ш., 2.2° в.д., 33 м н/м Paris, France, 48.5°N, 2.2°E, 33 m a.s.l.
Uchakina R.V., 1977 [59]	–	КС CS	К C	утро morning	65/43	24	–	4	Хабаровск, Россия, 48.3° с.ш., 135° в.д., 72 м н/м Khabarovsk, Russia, 48.3°N, 135°E, 72 m a.s.l.
Van Cauter E.W., 1981 [60]]	–	П P	К C	сутки 24 h	6	23.5	100	2	Брюссель, Бельгия, 50.5° с.ш., 4.2° в.д., 13 м н/м Brussels, Belgium, 50.5°N, 4.2° W, 13 m a.s.l.
Van Cauter E.W., 1981 (2) [61]	–	П P	ПРЛ PRL	сутки 24 h	6	25	100	2	Брюссель, Бельгия, 50.5° с.ш., 4.2° в.д., 13 м н/м Brussels, Belgium, 50.5°N, 4.2°W, 13 m a.s.l.
Walker B.R., 1997 [62]	–	КС CS	К, АРП, АЛ K, PRA, AL	утро morning	41/25	28.5	100	4	Эдинбург, Шотландия, 55.6° с.ш., 3.1° з.д., 47 м н/м Edinburgh, Scotland, 55.6°N, 3.1°E, 47 m a.s.l.
Wehr T.A., 1995 [63]	–	П P	К, М C, M	сутки 24 h	21	32	100	2	Вашингтон, США, 38.5° с.ш., 77° з.д., 125 м н/м Washington, USA, 38.5°N, 77°E, 125 m a.s.l.

П – панельные исследования, КС – кросс-секциональные исследования, К – кортизол, Т – тестостерон, ЭС – эстрадиол, М – мелатонин, А – адреналин, НА – норадреналин, АРП – активность ренина плазмы, АЛ – альдостерон, ПРЛ – пролактин,* – отдельно исследовались мужчины и женщины, (–) – нет информации.

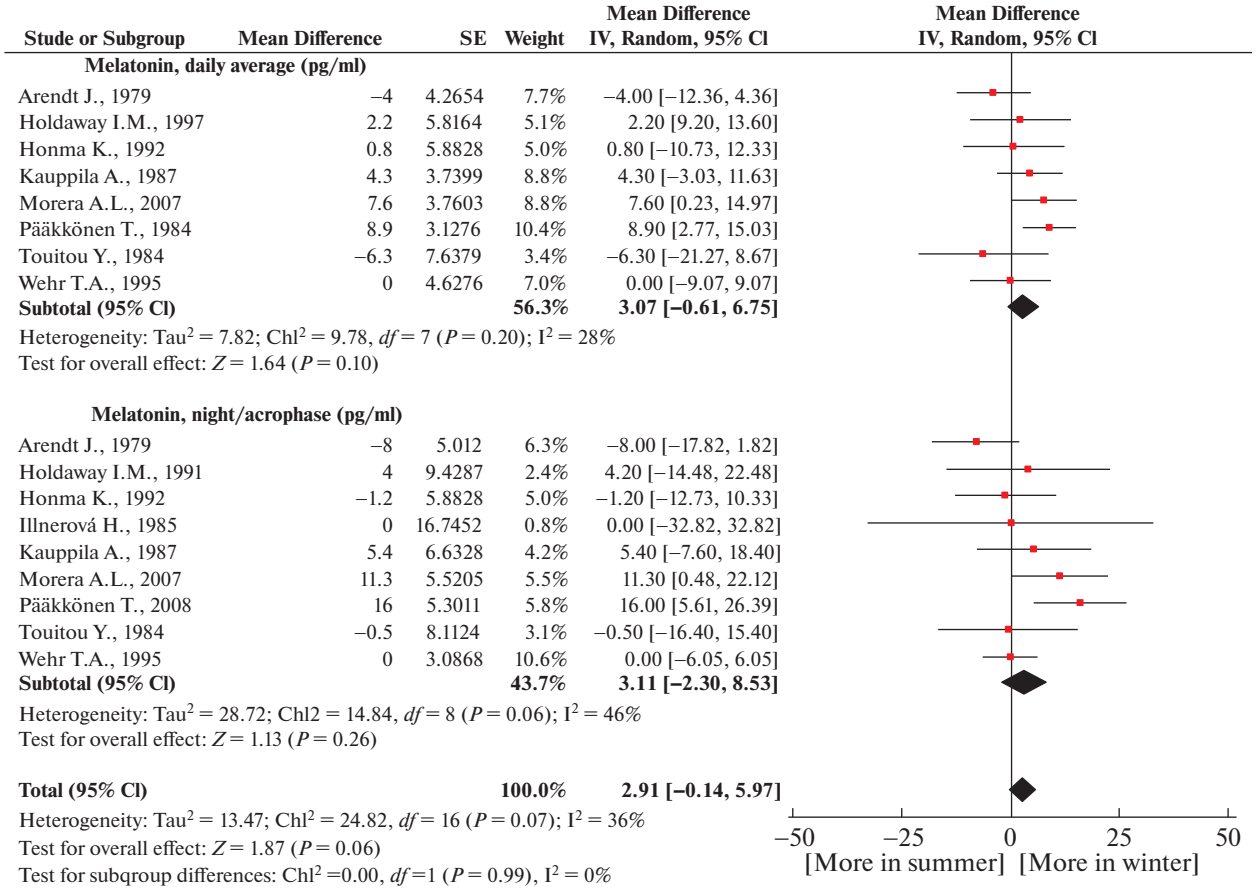


Рис. 2. Сезонная динамика мелатонина (зимний период в сравнении с летним).

нию с летом появляется больше аномальных суточных профилей мелатонина с дополнительным дневным пиком [72]. Таким образом, на чувствительность циркадного профиля мелатонина к фотопериоду будут влиять индивидуальные особенности, возраст, нестабильность и резкие изменения фотопериода, вызванные, например, использованием искусственного освещения. Интересно отметить, что исследование пинеальной железы умерших в разное время года и суток людей показало увеличение уровня пинеального мелатонина в ночное время при длинном дне по сравнению с коротким днем (образцы были собраны в Лексингтоне 38° с.ш. и Амстердаме 52° с.ш.) [73]. Также есть швейцарское исследование, в котором на 47° с.ш. наблюдали у людей минимальный уровень циркулирующего мелатонина весной и осенью, а не летом [25]. Но в исследовании в Саппоро (43° с.ш.), напротив, осенью и весной уровень циркулирующего мелатонина был несколько выше, чем в другие сезоны [35].

С особенностями сезонной динамики мелатонина часто связывают развитие различных патологий. Так, замечено, что жители полярных регионов, для которых характерны “белые” ночи, чаще страдают онкологическими заболеваниями [74, 75]. С другой стороны, длинная “полярная ночь” может быть ассоциирована со снижением риска развития онкологических заболеваний в этот период [75]. В исследовании, проведенном в Новой Зеландии [34], наблюдали у женщин с раком груди более высокий уровень мелатонина не зимой, а летом. Кроме того, с сезонной динамикой мелатонина ассоциированы сезонные аффективные расстройства [76], рассеянный склероз [77], инсулинорезистентность и ожирение [78].

Сезонная динамика пролактина

Исследования сезонной динамики пролактина были проведены в регионах, расположенных между 65° и 32° географическими широтами. И у мужчин, и у женщин уровни пролактина зимой и летом существенно не различались (табл. 3 и рис. 3).

У женщин репродуктивного возраста, проживающих в регионах между 38 и 32 географическими широтами, уровень пролактина был существенно выше весной по сравнению с осенью, различия были значимы для средних за сутки значений гормона, но не для акрофазы (табл. 3 и рис. 4). Нам не удалось выявить сезонную динамику пролактина у

Таблица 2. Сезонная динамика мелатонина

Сравниваемые сезоны Compared seasons		Кол-во исследований Number of studies	Средняя разница Mean difference	I^2 %	Тест на общий эффект Test for overall effect		
1 сезон/выборка season/total	2 сезон/выборка season/total				Rand. or Fix.	Z	P
Мелатонин (мезор за сутки, пг/мл)/Melatonin (mesor per 24 h, pg/mL)							
зима (winter)/128	лето (summer)/126	8	3.07 [–0.61, 6.75]	28	R	1.64	0.10
зима (winter)/40	весна (spring)/40	3	1.58 [–8.06,11.22]	47	R	0.32	0.75
зима (winter)/40	осень (autumn)/40	3	2.51 [–3.15, 8.17]	13	F	0.87	0.39
осень (autumn)/40	лето (summer)/40	3	–5.09 [–15.98, 5.79]	72	R	0.92	0.36
весна (spring)/40	лето (summer)/40	3	–3.91 [–14.93, 7.11]	63	R	0.70	0.49
весна (spring)/40	осень (autumn)/40	3	1.40 [–8.94, 11.74]	62	R	0.26	0.79
Мелатонин (акрофаза/ночь, пг/мл)/Melatonin (acrophase/night, pg/mL)							
зима (winter)/128	лето (summer)/126	8	3.11 [–2.30, 8.53]	46	R	1.13	0.26
зима (winter)/40	весна (spring)/40	3	3.09 [–3.52, 9.71]	0	F	0.92	0.36
зима (winter)/40	осень (autumn)/40	3	1.37 [–11.11, 13.84]	72	R	0.21	0.83
осень (autumn)/40	лето (summer)/40	3	–4.76 [–19.53, 10.01]	83	R	0.63	0.53
весна (spring)/40	лето (summer)/40	3	–5.47 [–16.56, 5.61]	59	R	0.97	0.33
весна (spring)/40	осень (autumn)/40	3	0.54 [–13.79, 14.87]	76	R	0.07	0.94

Таблица 3. Сезонная динамика пролактина у женщин репродуктивного возраста

Сравниваемые сезоны Compared seasons		Кол-во исследований Number of studies	Средняя разница Mean difference	I^2 %	Тест на общий эффект Test for overall effect		
1 сезон/выборка season/total	2 сезон/выборка season/total				Rand. or Fix.	Z	P
Пролактин (мезор за сутки, нг/мл)/Prolactin (mesor per 24 h, ng/mL)							
зима (winter)/63	лето (summer)/63	4	0.61 [–6.64, 7.87]	84	R	0.17	0.87
зима (winter)/53	весна (spring)/53	3	–2.14 [–11.03, 6.74]	80	R	0.47	0.64
зима (winter)/53	осень (autumn)/53	3	2.46 [–4.44, 9.36]	85	R	0.70	0.48
осень (autumn)/53	лето (summer)/53	3	–1.66 [–4.36, 1.04]	10	F	1.21	0.23
весна (spring)/53	лето (summer)/53	3	2.87 [–0.96, 6.70]	0	F	1.47	0.14
весна (spring)/53	осень (autumn)/53	3	4.53 [0.91, 8.14]	0	F	2.45	0.01
Пролактин (акрофаза/ночь, нг/мл)/Prolactin (acrophase/night, ng/mL)							
зима (winter)/53	лето (summer)/53	3	–4.53 [–21.82, 12.76]	87	R	0.51	0.61
зима (winter)/53	весна (spring)/53	3	–2.00 [–24.90, 20.90]	90	R	0.17	0.86
зима (winter)/53	осень (autumn)/53	3	–1.69 [–7.09, 3.70]	0	F	0.62	0.54
осень (autumn)/53	лето (summer)/53	3	–4.78 [–23.07, 13.51]	88	R	0.51	0.61
весна (spring)/53	лето (summer)/53	3	–0.29 [–15.58, 15.01]	77	R	0.04	0.97
весна (spring)/53	осень (autumn)/53	3	3.51 [–16.62, 23.63]	86	R	0.34	0.73
Пролактин, фолликулярная фаза цикла (утро, нг/мл)/Prolactin, follicular phase of the cycle (morning, ng/mL)							
зима (winter)/99	лето (summer)/95	4	–0.67 [–2.48, 1.14]	0	F	0.72	0.47

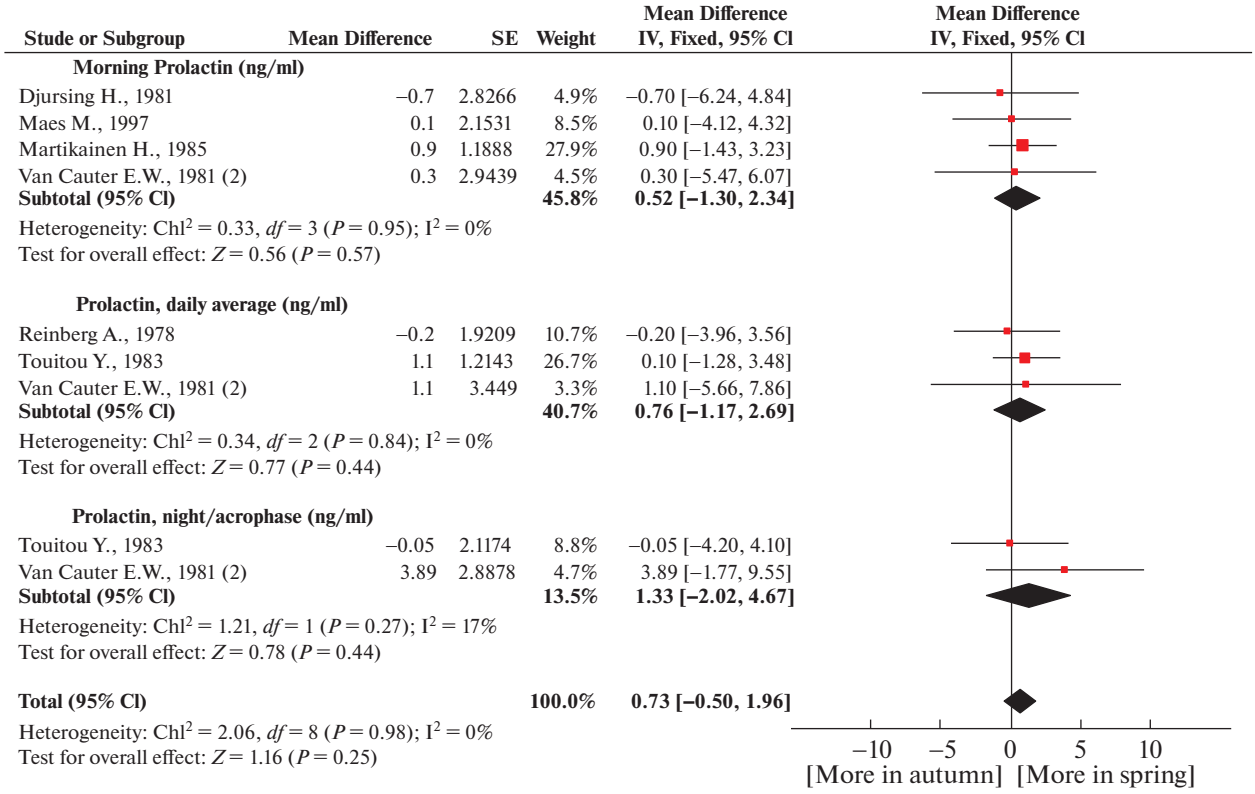


Рис. 3. Сезонная динамика пролактина у мужчин (зимний период в сравнении с летним).

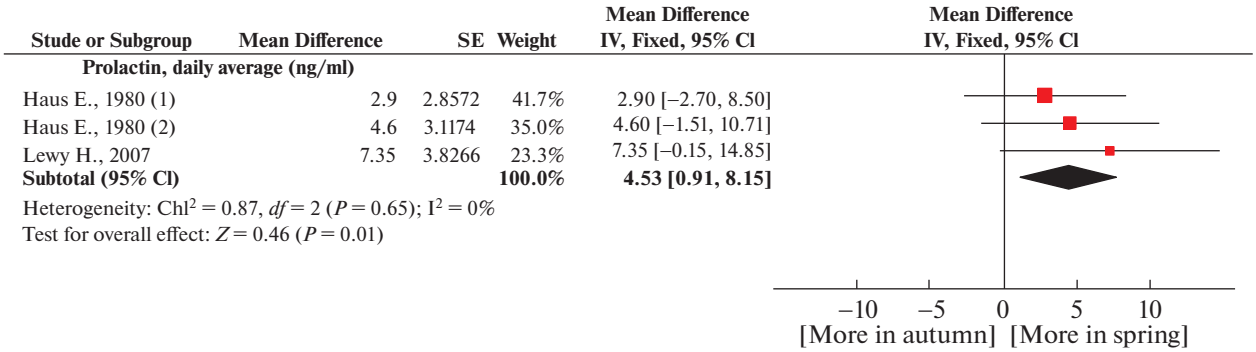


Рис. 4. Сезонная динамика пролактина у женщин репродуктивного возраста (осенний период в сравнении с весенним).

мужчин, но для полноценного статистического анализа было мало исследований (рис. 3). Известно, что уровень пролактина изменяется в течение суток с максимальными значениями ночью, причем амплитуда суточных колебаний пролактина больше у женщин, чем у мужчин [79]. В экспериментальном исследовании с участием мужчин наблюдали максимальный уровень пролактина в акрофазу при длинном дне [68]. Следует отметить, что хотя секреция пролактина регулируется фотопериодом через изменение продолжительности ночной секреции мелатонина, колебания уровня пролактина демонстрируют окологодовую ритмичность даже при постоянном фотопериоде. Есть гипотеза, что в клетках pars tuberalis существует внутренний обратимый круглогодичный таймер, функционирование которого обеспечивается циркадными генами, экспрессирующими в pars tuberalis [80].

Сезонная динамика половых гормонов

Сезонная динамика тестостерона и эстрадиола была исследована в регионах, расположенных между 69 и 44 географическими широтами. Метаанализ показал, что уровень циркулирующего те-

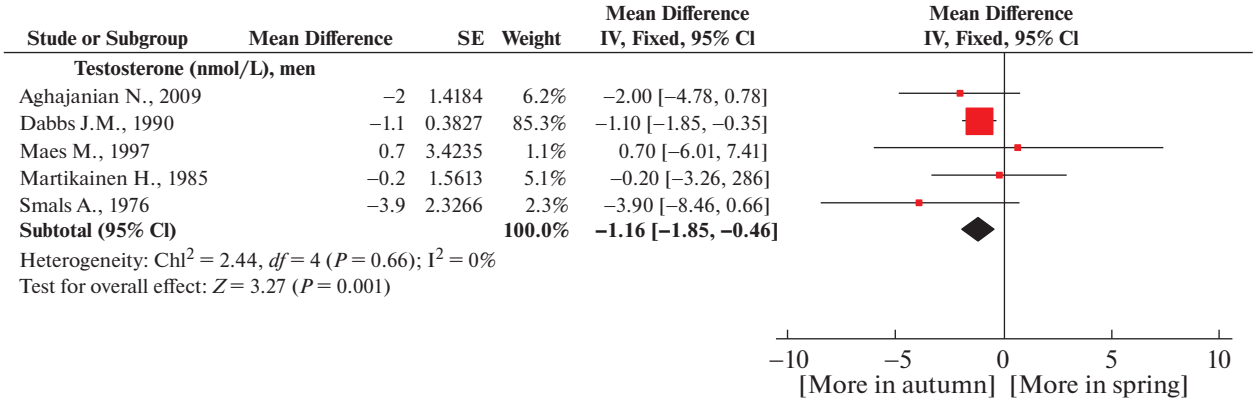


Рис. 5. Сезонная динамика тестостерона у мужчин (осенний период в сравнении с весенним).

стостерона у мужчин был выше осенью, чем весной (рис. 5, табл. 4). В большом кросс-секциональном исследовании в Тромсе (Норвегия), которое мы не включили в наш мета-анализ по причине того, что в нем пробы крови были собраны с 8:00 до 16:00 ч, также был установлен осенний пик циркулирующего тестостерона [67]. Как показал ранее проведенный нами мета-анализ, осенью увеличивается уровень свободных фракций тиреоидных гормонов [3], которые по результатам ряда работ могут способствовать выработке половых гормонов и сперматогенезу у мужчин [81]. Кроме того, высокий

Таблица 4. Сезонная динамика тестостерона (только мужчины) и кортизола (мужчины и женщины)

Сравниваемые сезоны Compared seasons		Кол-во исследований Number of studies	Средняя разница Mean difference	I^2 %	Тест на общий эффект Test for overall effect		
1 сезон/выборка season/total	2 сезон/выборка season/total				Rand. or Fix.	Z	P
Утренний тестостерон (нмоль/л)/Morning testosterone (nmol/L)							
зима (winter)/1303	лето (summer)/1868	7	−0.72 [−2.45, 1.01]	82	R	0.82	0.41
зима (winter)/1098	весна (spring)/903	5	0.47 [−0.71,1.65]	27	R	0.78	0.44
зима (winter)/1098	осень (autumn)/1069	5	−1.19 [−3.02, 0.65]	52	R	1.27	0.20
осень (autumn)/1069	лето (summer)/1663	5	0.28 [−1.58, 2.14]	47	R	0.30	0.77
весна (spring)/903	лето (summer)/1663	5	−1.25 [−3.56, 1.07]	68	R	1.05	0.29
весна (spring)/903	осень (autumn)/1069	5	−1.15 [−1.84, −0.46]	0	F	3.28	0.001
Кортизол (мезор за сутки, мкг/дл)/Cortisol (mesor per 24 h, mcg/dl)							
зима (winter)/92	лето (summer)/92	6	1.47 [−0.38, 3.32]	74	R	1.56	0.12
зима (winter)/55	весна (spring)/55	3	1.26 [−0.13, 2.4]	0	F	2.18	0.03
зима (winter)/55	осень (autumn)/55	3	0.71 [−0.31, 1.74]	0	F	1.36	0.17
осень (autumn)/55	лето (summer)/55	3	−0.58 [−1.63, 0.47]	0	F	1.08	0.28
весна (spring)/55	лето (summer)/55	3	−0.98 [−2.15, 0.18]	17	F	1.65	0.10
весна (spring)/55	осень (autumn)/55	3	−0.39 [−1.31, 0.52]	0	F	0.84	0.40
Кортизол (акрофаза/утро, мкг/дл)/Cortisol (acrophase/morning, mcg/dl)							
зима (winter)/7503	лето (summer)/7907	16	−0.34 [−1.76, 1.08]	92	R	0.46	0.64
зима (winter)/7159	весна (spring)/7214	9	0.31 [−0.61, 1.23]	53	R	0.67	0.51
зима (winter)/7159	осень (autumn)/7613	9	0.61 [−0.80, 2.03]	86	R	0.85	0.39
осень (autumn)/7613	лето (summer)/7576	9	0.12 [−0.82, 1.06]	77	R	0.24	0.81
весна (spring)/7214	лето (summer)/7576	9	0.48 [−1.23, 2.18]	91	R	0.55	0.58
весна (spring)/7214	осень (autumn)/7613	9	0.38 [−0.86, 1.61]	76	R	0.60	0.55

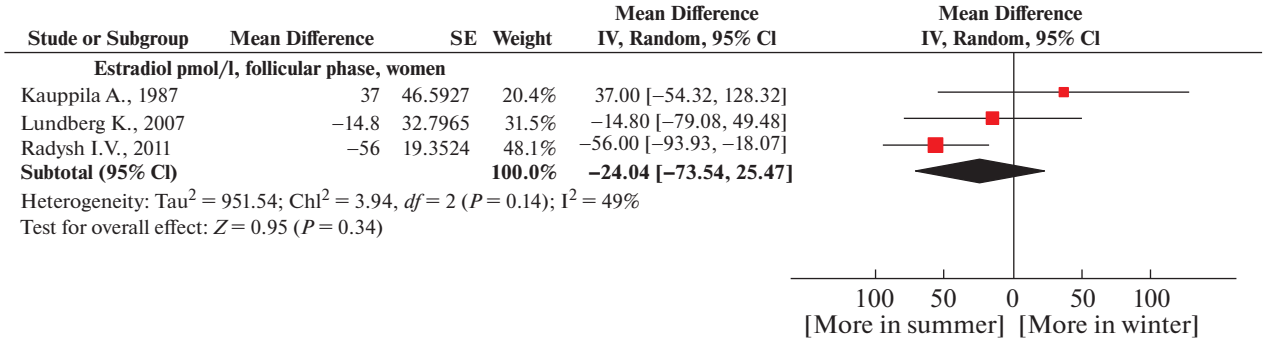


Рис. 6. Сезонная динамика эстрадиола у женщин (зимний период в сравнении с летним).

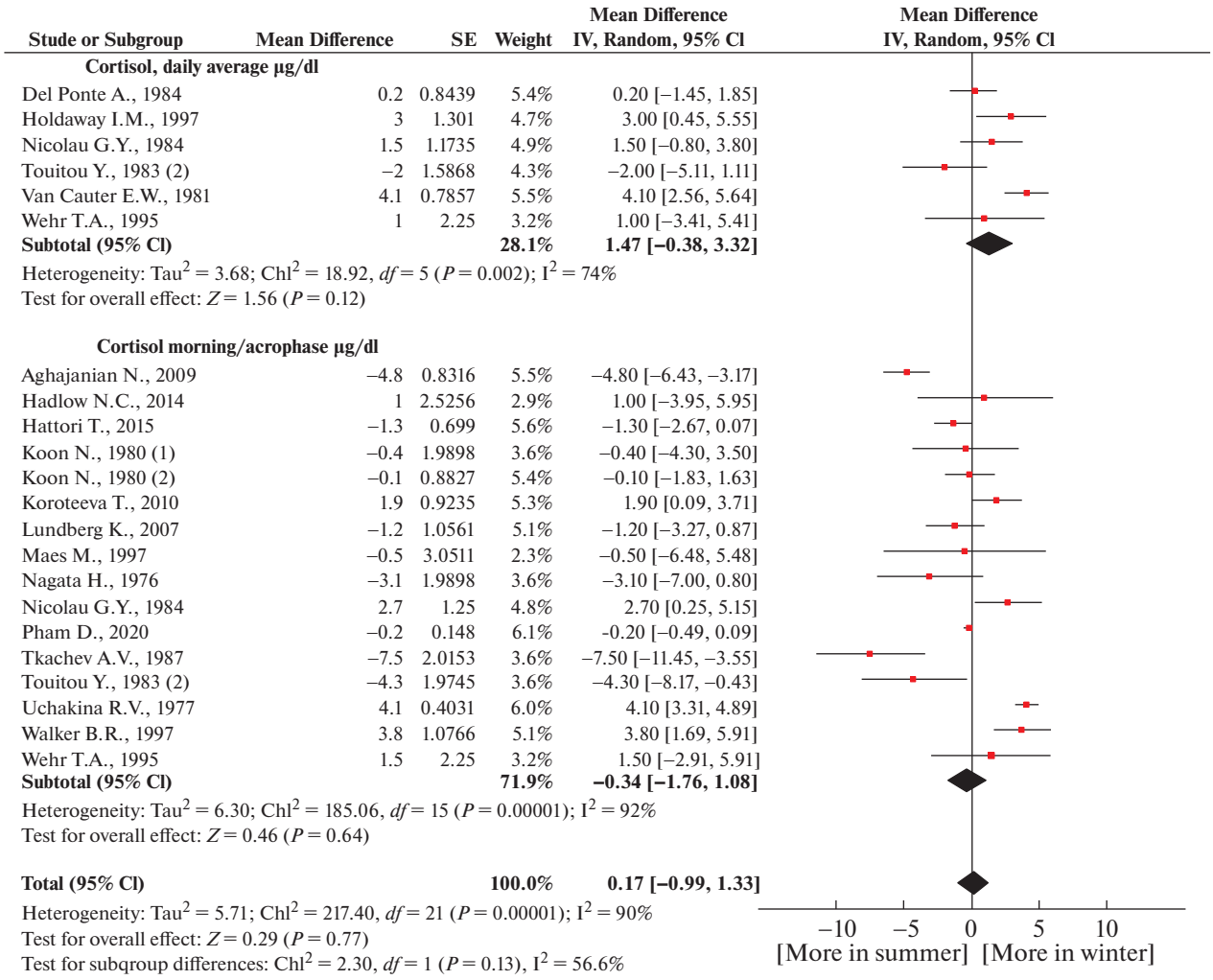


Рис. 7. Сезонная динамика кортизола (зимний период в сравнении с летним).

уровень тестостерона осенью, возможно, отчасти связан с увеличением в холодный сезон концентрации циркулирующих липидов, являющихся предшественниками тестостерона [82–84].

По результатам трех исследований, включенных в наш мета-анализ, уровень эстрадиола у женщин не показал значимых изменений летом по сравнению с зимой (рис. 6). В работе [85] обнаружили, что летом по сравнению с зимой фолликулы быстрее растут, наблюдается большее количество овуляций, а менструальный цикл укорачивается. Другими S.M. Yie и соавт. установили, что в фолликуляр-

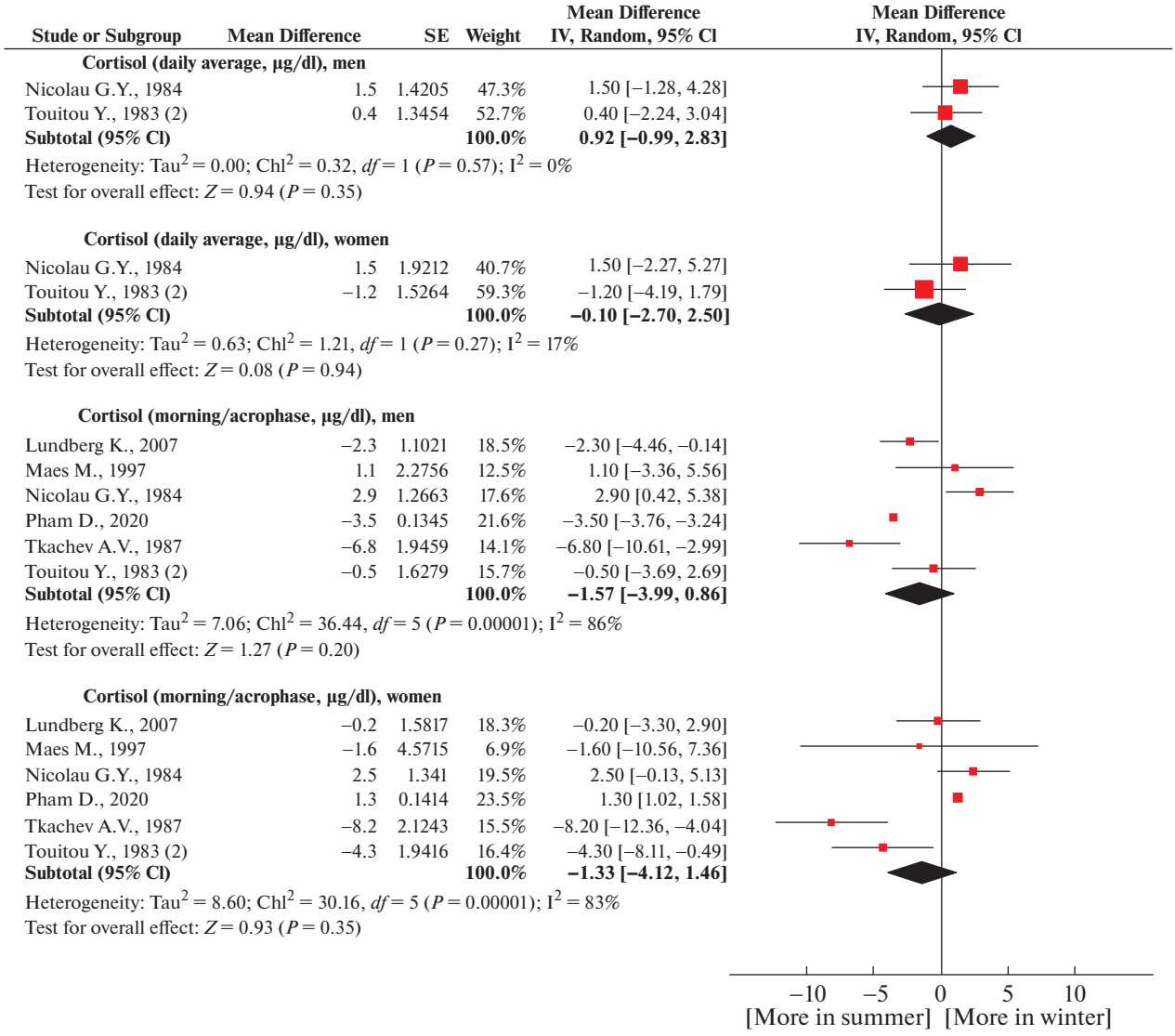


Рис. 8. Зависимость от пола сезонной динамики кортизола.

ной жидкости летом по сравнению с зимой существенно возрастает концентрации эстрадиола, но снижается содержание прогестерона. Кроме того, в фолликулярной жидкости отмечались и сезонные изменения уровня мелатонина с максимумом зимой и минимумом летом [86]. Известно, что мелатонин может синтезироваться экстрапинеально, в том числе в тканях репродуктивных органов, в которых также были обнаружены мелатонинергические рецепторы 1-го и 2-го типа [87, 88]. Мелатонин обладает антиэстрогенным действием, ингибируя фермент ароматазу, который участвует в синтезе эстрогенов из андрогенных предшественников [4].

Сезонная динамика кортизола

Исследования сезонной динамики кортизола были проведены в регионах между 31 и 67 географическими широтами (климат от тропического до субарктического). По результатам мета-анализа средний за сутки уровень циркулирующего кортизола был выше зимой, чем весной, значимых различий по уровню кортизола между другими сезонами не было (табл. 4 и рис. 7). По результатам 6 публикаций, в которых одновременно исследовалась сезонная динамика кортизола у мужчин и женщин, значимых различий между полами выявлено не было (рис. 8). Известно, что максимальный уровень кортизола наблюдается утром, но момент акрофазы будет зависеть от фотопериода, т.е. от времени года [6, 68]. Поскольку пробы крови собирались обычно без учета точного момента акрофазы, а в период с 6:00 до 11:00 ч утра, это могло нивелировать сезонные изменения гормона. С другой стороны, исследования в Вашингтоне не показали существенного сезонного смещения циркадного

Таблица 5. Сезонная динамика метеорологических факторов

Регион Region	Температура воздуха Air temperature, °C		Атмосферное давление, гПа Atmosphere pressure, hPa		Относительная влажность Relative humidity, %		ρO_2, г/м^3/g/m^3	
	зима winter	лето summer	зима winter	лето summer	зима winter	лето summer	зима winter	лето summer
Нарьян-мар, Россия Naryan-mar, Russia	–16.0	11.0	1006	1005	95	75	316	283
Линчёпинг, Швеция Linkoping, Sweden	–0.5	15.7	995	997	87	70	294	276
Эдинбург, Шотландия Edinburgh, Scotland	5.2	12.3	1000	1003	83	78	289	281
Москва, Россия Moscow, Russia	–5.6	19	995	992	83	68	300	270
Антверпен, Бельгия Antwerp, Belgium	5.3	19.3	1012	1011	81	71	292	276
Париж, Франция Paris, France	5.3	19.7	1005	1003	83	70	290	272
Хабаровск, Россия Khabarovsk, Russia	–17.5	19.8	1008	993	73	79	319	269
Минеральные Воды, Россия Mineralnye Vody, Russia	–2.1	21.4	978	971	84	67	291	262
Бухарест, Румыния Bucharest, Romania	–0.4	21.7	1005	999	88	67	297	269
Саппоро, Япония Sapporo, Japan	–3.6	22.9	1007	1003	70	77	301	268
Вашингтон, США Washington, USA	3.5	25.4	1004	1001	65	67	291	264
Сендай, Япония Sendai, Japan	5.7	28	1008	1006	61	77	291	262
Сеул, Корея Seoul, Korea	–1.1	25.1	1009	994	56	72	296	263
Нагано, Япония Nagano, Japan	–2.0	26.3	952	948	62	75	283	249
Перт, Австралия Perth, Australia	17	35	1014	1006	77	55	281	266

профиля кортизола [63]. Кроме того, было установлено, что внутри сезонов значения кортизола существенно увеличивались в дни с дискомфортной погодой по сравнению с днями с комфортной погодой [59]. T. A. Wehr и соавт. в экспериментах с участием добровольцев, помещенных в искусственно созданные условия длинного и короткого дня, наблюдали повышение уровня кортизола в акрофазу при коротком дне [68].

Исследования в Австралии показали, что с увеличением географической широты уровень циркулирующего кортизола возрастает [89]. Мы не отметили такой закономерности, средний уровень утреннего кортизола составлял 15.5 мкг/дл у людей, проживающих как в области высоких, так и в области низких географических широт. Следует учитывать, что на суровость климата оказывает влияние не только широта, но и другие факторы, например континентальность, теплые и холодные морские течения. Так, в Линчёпинге (58° с.ш. 15.3° в.д.) благодаря теплому течению Гольфстрим зима значительно теплее, чем в Хабаровске (48.3° с.ш. 135° в.д.) (табл. 5). Также наш мета-анализ не показал значимой зависимость сезонной динамики уровня утреннего кортизола от цирканнуальных колебаний температуры воздуха, относительной влажности и парциальной плотности кислорода в воздухе (рис. 9). Сезонная динамика

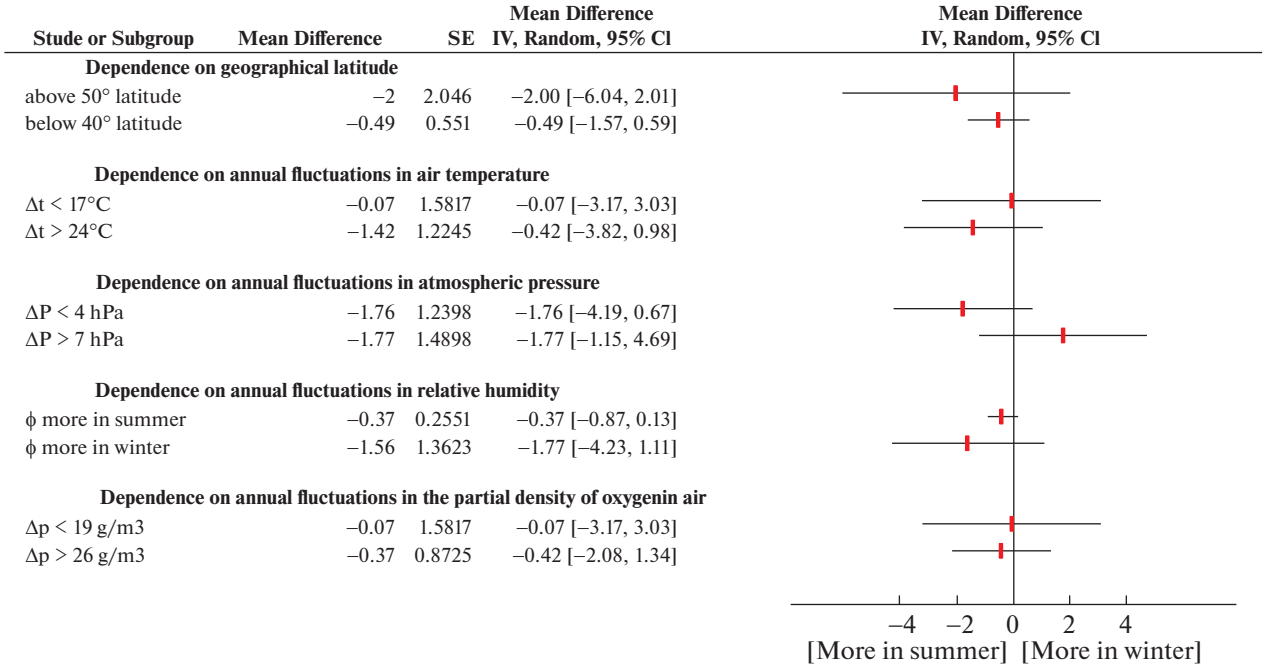


Рис. 9. Зависимость сезонной динамики кортизола (утренние значения, мкг/дл) от географической широты и амплитуды колебаний метеорологических факторов.

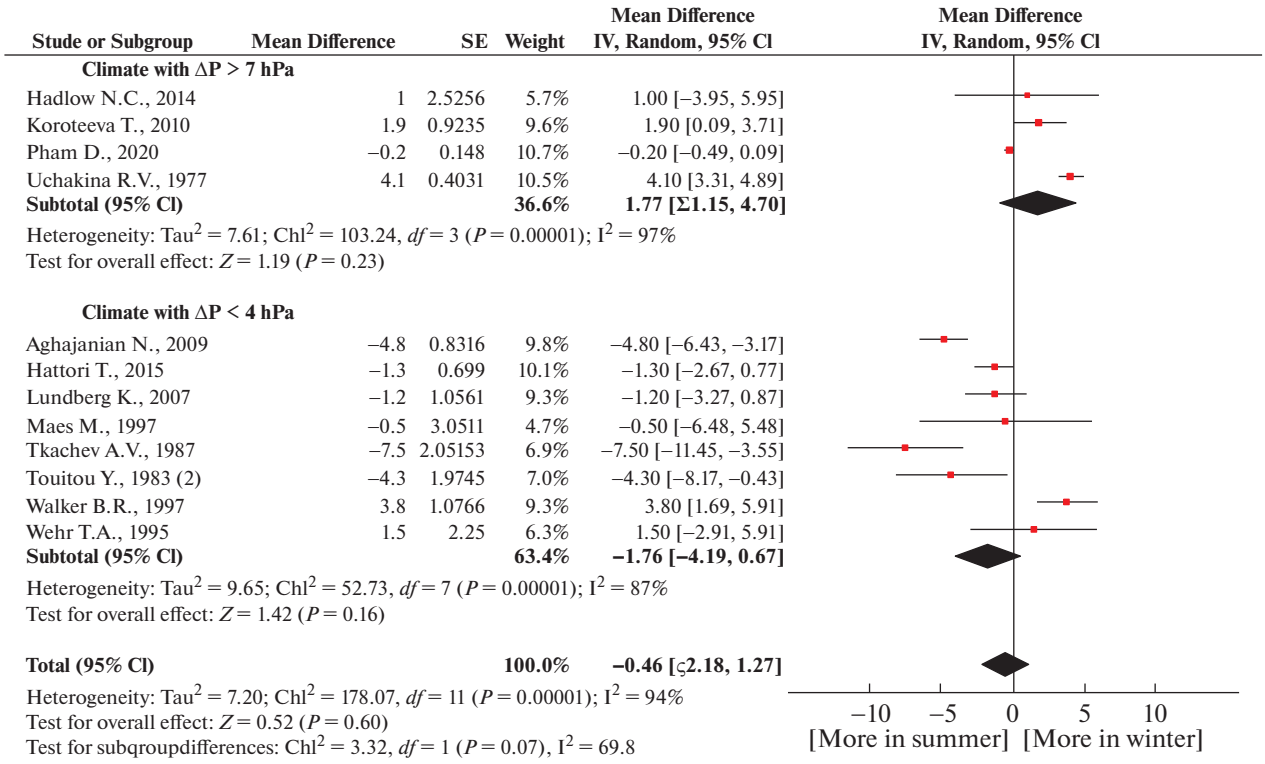


Рис. 10. Зависимость сезонной динамики кортизола (утренние значения, мкг/дл) от цирканнуальной динамики атмосферного давления.

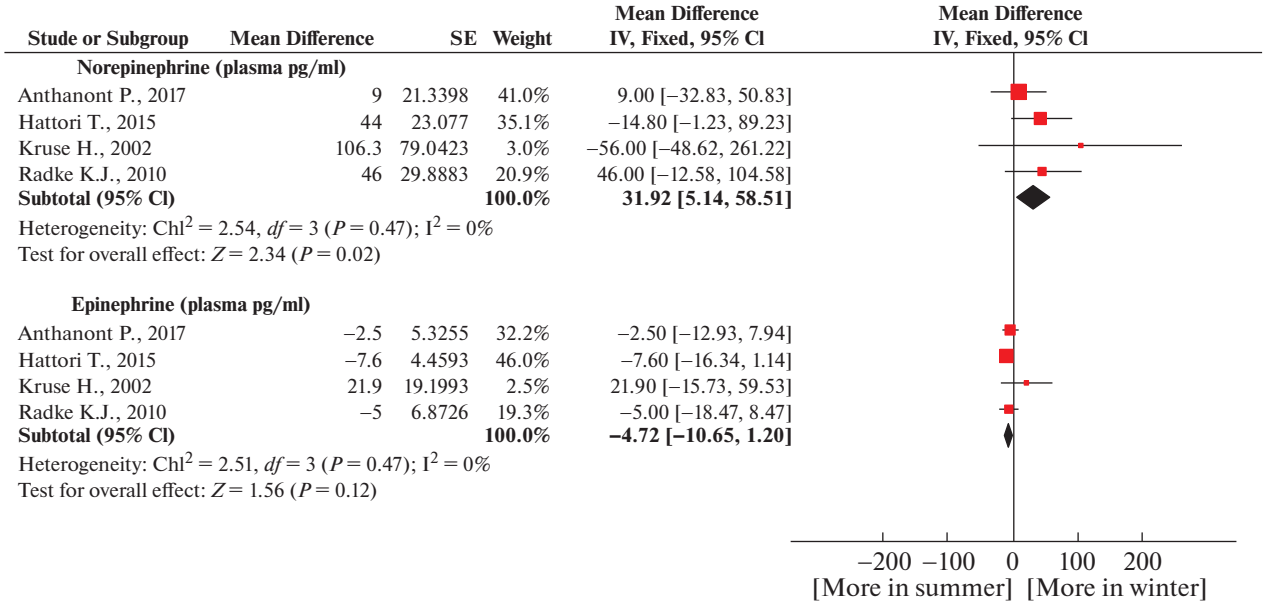


Рис. 11. Сезонная динамика катехоламинов (зимний период в сравнении с летним).

метеорологических факторов в исследуемых регионах представлена в табл. 5.

По итогам нашего мета-анализа тенденция сезонных изменений утреннего кортизола была направлена, как правило, на увеличение его уровня летом по сравнению с зимой (но без значимых изменений), однако в климате с выраженной сезонной динамикой среднемесячного атмосферного давления (с максимальными значениями зимой и минимальными – летом) тренд изменялся на обратный (рис. 9 и рис. 10). Ранее нами было установлено, что в регионах с подобным типом климата имеет место значимое увеличение ТТГ зимой по сравнению с летом, в отличие от регионов, где среднемесячное атмосферное давление существенно не различается зимой и летом [3]. Интересно отметить, что у людей наблюдали положительную корреляцию между уровнем ТТГ и концентрацией кортизола [90]. Есть наблюдения, что у позвоночных, не являющихся млекопитающими, кортикотропин-рилизинг-гормон не только регулирует секрецию глюкокортикоидов, но также может стимулировать секрецию ТТГ [91]. У млекопитающих отмечали способность тиролиберина оказывать влияние на секрецию адренокортикотропного гормона, но результаты экспериментов были противоречивы [92]. Тем не менее в ряде исследований наблюдали изменение уровня как ТТГ, так и кортизола при колебаниях атмосферного давления, связанных с изменением высоты над уровнем моря [3, 93, 94]. В нашем случае окончательный вывод о влиянии атмосферного давления на сезонную динамику кортизола делать рано, поскольку в наш статистический анализ было включено небольшое количество исследований и изменения были незначимы (рис. 10).

В ряде работ исследовалась сезонная динамика кортизола при различных патологиях. Было выявлено, что у людей с депрессией уровень кортизола повышен весной и осенью [95].

Сезонная динамика катехоламинов и альдостерона

Исследования сезонной динамики утренних значений катехоламинов у людей были проведены в регионах, расположенных в умеренной зоне. Мета-анализ выявил сезонную динамику циркулирующего норадреналина с максимумом зимой и минимумом летом. Сезонная динамка адреналина не была выражена (рис. 11). Повышение уровня норадреналина зимой также было зафиксировано и при исследовании суточной мочи [96]. Следует отметить, что на уровень мелатонина может оказать влияние не только длина дня, но также и уровень норадреналина, поскольку мелатонин синтезируется у млекопитающих из серотонина под воздействием фермента N-ацетилтрансферазы, активность которого повышается в темное время суток при стимуляции пинеальных адренергических рецепторов норадреналином [97, 98]. Возможно, в том числе, и этот факт, а не только изменение фотопериода, объясняет выраженную сезонную динамику мелатонина, установленную в ряде исследований.

По результатам мета-анализа трех исследований АРП не проявляла сезонной динамики у людей. Уровень альдостерона показал тенденцию увеличения зимой по сравнению с летом (рис. 12).

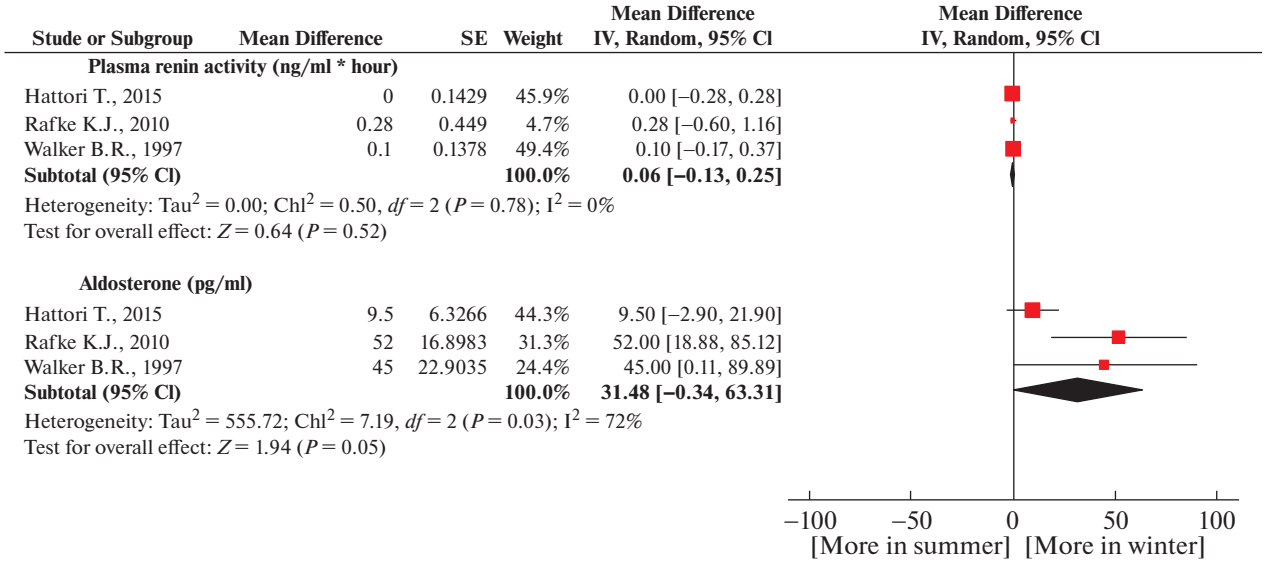


Рис. 12. Сезонная динамика ренина и альдостерона (зимний период в сравнении с летним).

Известно, что максимальное количество обострений сердечно-сосудистых патологий приходится именно на зиму и связно с повышением артериального давления, причиной которого является, в том числе, увеличение уровня норадреналина и альдостерона в холодный сезон [18, 99]. Интересно отметить, что в некоторых исследованиях наблюдали максимальный уровень циркулирующего альдостерона весной [62] и отмечали повышение риска развития альдостерон-зависимой гипертензии в этот сезон [100, 101]. Возможно, это связано с тем, что при длинном дне повышается экспрессия циркадного гена Per1, который также ассоциирован с повышением уровня альдостерона и удержанием ионов Na^+ [102, 103]. Кроме этого, синтез альдостерона связывают с циркадным геном Cry1/2 [104], а экспрессия циркадных генов гладких мышц сосудов может быть активирована ангиотензином II [105].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы представили оценку сезонной динамики по всем четырем сезонам для мелатонина, пролактина (женщины), кортизола и тестостерона. Для остальных гормонов мы сравнили их уровни в крови только зимой и летом ввиду недостаточной информации по другим сезонам. По этой же причине зависимость сезонной динамики гормонов от циркаануальных колебаний метеорологических факторов представлена только для утренних значений кортизола.

В результате проведенного мета-анализа мы выявили увеличение уровня циркулирующего норадреналина и альдостерона зимой по сравнению с летом, что наряду с установленным ранее увеличением активности тиреоидных гормонов зимой [3], подтверждает существенное влияние циркаануальных колебаний температуры воздуха на гормональный статус современного человека. Однако поскольку в ряде исследований была показана сезонная динамика мелатонина, а мета-анализ выявил значимое увеличение весной по сравнению с осенью среднего за сутки уровня пролактина у женщин репродуктивного возраста, нельзя полностью исключить влияние фотопериода на современного человека. Гормональные изменения, в свою очередь, могут вызвать сезонные изменения физиологических параметров и репродуктивной функции, а также повлиять на развитие и обострение отдельных патологий.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Данная работа выполнена за счет собственных средств авторов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Планирование исследования – Н.В. Кузьменко; сбор и обработка данных – Н.В. Кузьменко, М.Г. Плисс; написание и редактирование манускрипта – Н.В. Кузьменко, В.А. Цырлин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dardente H., Wyse C.A., Birnie M.J., Dupré S.M., Loudon A.S., Lincoln G.A., Hazlerigg D.G.* (2010) A molecular switch for photoperiod responsiveness in mam-

mals. Curr Biol 20 (24): 2193–2198. https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.10.048
2. *Dardente H., Hazlerigg D.G., Ebling F.J.* (2014) Thyroid hormone and seasonal rhythmicity. Front Endocrinol (Lausanne) 5:19. https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2014.00019/full
3. *Kuzmenko N.V., Tsyrlin V.A., Pliss M.G., Galagudza M.* (2021) Seasonal variations in levels of human thyroid-stimulating hormone and thyroid hormones: a meta-analysis. Chronobiology International. https://doi.org/10.1080/07420528.2020.1865394
4. *Tenorio F., Simões Mde J., Teixeira V.W., Teixeira Á.A.* (2015) Effects of melatonin and prolactin in reproduction: review of literature. Rev Assoc Med Bras 61 (3):269–274. https://doi.org/10.1590/1806-9282.61.03.269
5. *Tortonese D.J.* (2016) Intrapituitary mechanisms underlying the control of fertility: key players in seasonal breeding. Domest Anim Endocrinol 56 (Suppl): S191–203. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2016.01.002
6. *Yu K., Deng S.L., Sun T.C., Li Y.Y., Liu Y.X.* (2018) Melatonin Regulates the Synthesis of Steroid Hormones on Male Reproduction: A Rev Molecules 23 (2):447. https://doi.org/10.3390/molecules23020447
7. *Romero L.M.* (2002) Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. Gen Comp Endocrinol 128 (1):1–24. https://doi.org/10.1016/s0016-6480(02)00064-3
8. *Scotti M.A., Rendon N.M., Greives T.J., Romeo R.D., Demas G.E.* (2015) Short-day aggression is independent of changes in cortisol or glucocorticoid receptors in male Siberian hamsters (Phodopus sungorus). J Exp Zool A Ecol Genet Physiol 323 (5):331–341. https://doi.org/10.1002/jez.1922
9. *Lemos D.R., Downs J.L., Raitiere M.N., Urbanski H.F.* (2009) Photoperiodic modulation of adrenal gland function in the rhesus macaque: effect on 24-h plasma cortisol and dehydroepiandrosterone sulfate rhythms and adrenal gland gene expression. J Endocrinol 201 (2): 275–285. https://doi.org/10.1677/JOE-08-0437
10. *de Bruijn R., Romero L.M.* (2018) The role of glucocorticoids in the vertebrate response to weather. Gen Comp Endocrinol 269:11–32. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.07.007
11. *Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В.* (2015) Влияние долговременной адаптации к холоду на состояние сердечно-сосудистой системы. Рос. Физиол. Журн. им. И.М. Сеченова 101(5): 525–537. [Maslov L.N., Naryzhnaia N.V. (2015) Impact of long-term adaptation to cold on the state of cardiovascular system. Russian Journal of Physiology 101 (5): 525–537. (In Russ)].
12. *Sun Z.* (2010) Cardiovascular responses to cold exposure. Front Biosci (Elite Ed) 2: 495–503. https://doi.org/10.2741/e108
13. *Rodriguez H., Filippa V.P., Penissi A., Fogal T., Domínguez S., Piezzi R.S., Scardapane L.* (2013) Seasonal changes in the activity of the adrenal medulla of Viscacha (Lagostomus maximus maximus). Anat Rec (Hoboken) 296 (7): 1089–1095. https://doi.org/10.1002/ar.22707
14. *Eisermann K., Meier B., Khaschei M., von Holst D.* (1993) Ethophysiological responses to overwinter food shortage in wild European rabbits. Physiol Behav 54 (5): 973–980. https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90311-3
15. *Baldock N.M., Sibly R.M., Penning P.D.* (1988) Behavior and seasonal variation in heart rate in domestic sheep, Ovis aries. Animal Behaviour 36 (1): 35–43. https://doi.org/10.1016/S0003-3472(88)80247-1
16. *Staples J.F.* (2016) Metabolic Flexibility: Hibernation, Torpor, and Estivation. Comprehensive Physiology 6 (2): 737–771. https://doi.org/10.1002/cphy.c140064
17. *Weil Z.M., Borniger J.C., Cisse Y.M., Abi Salloum B.A., Nelson R.J.* (2015) Neuroendocrine control of photoperiodic changes in immune function. Front Neuroendocrinol 37: 108–118. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.10.001
18. *Rosenthal T.* (2004) Seasonal variations in blood pressure. Am J Geriatr Cardiol 13 (5): 267–272. https://doi.org/10.1111/j.1076-7460.2004.00060.x
19. *Visscher T.L., Seidell J.C.* (2004) Time trends (1993–1997) and seasonal variation in body mass index and waist circumference in the Netherlands. Int J Obes Relat Metab Disord 28 (10): 1309–1316. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802761
20. *Portaluppi F., Smolensky M.H., Touitou Y.* (2010) Ethics and methods for biological rhythm research on animals and human beings. Chronobiol Int 27 (9–10): 1911–1929. https://doi.org/10.3109/07420528.2010.516381
21. *Кузьменко Н.В.* (2019) Сезонные колебания атмосферного давления, парциальной плотности кислорода и геомагнитной активности как дополнительные синхронизаторы цирканнуальных ритмов. Биофизика 64 (4): 754–766. [Kuzmenko N.V. (2019) Seasonal variations in atmospheric pressure, partial oxygen density and geomagnetic activity as additional synchronizers of circannual rhythms. Biophysics 64 (4): 599–609. (In Russ)]. https://doi.org/10.1134/S0006350919040080
22. *Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T., Rothstein H.R.* (2009) Introduction to Meta-analysis. Wiley: Chichester.
23. *Агаджанян Н.А., Радыш И.В., Хисамутдинов А.Ф.* (2009) Липидный и гормональный обмен у здоровых мужчин в различные сезоны года. Казанский медицинский журнал 90 (6): 776–779. [Aghajanian N.A., Radysh I.V., Khisamutdinov A.F. (2009) Lipid and hormone metabolism in healthy men in different year seasons. Kazan medical journal 90 (6): 776–779. (In Russ)]. https://cyberleninka.ru/article/n/lipidnyy-i-gormonalnyy-obmen-u-zdorovyh-muzhchin-v-razlichnye-sezony-goda
24. *Anthanont P., Levine J.A., McCrady-Spitzer S.K., Jensen M.D.* (2017) Lack of Seasonal Differences in Basal Metabolic Rate in Humans: A Cross-Sectional Study. Horm Metab Res 49 (1): 30–35. https://doi.org/10.1055/s-0042-107793
25. *Arendt J., Wirz-Justice A., Bradtke J., Kornemark M.* (1979) Long-term studies on immunoreactive human melatonin. Ann Clin Biochem 16 (6): 307–312. https://doi.org/10.1177/000456327901600182
26. *Dabbs J.M.* (1990) Age and seasonal variation in serum testosterone concentration among men. Chronobiol Int 7 (3): 245–249. https://doi.org/10.3109/07420529009056982

27. *Del Ponte A., Guagnano M.T., Sensi S.* (1984) Time-related behaviour of endocrine secretion: circannual variations of FT3, cortisol, HGH and serum basal insulin in healthy subjects. Chronobiol Int 1 (4): 297–300. https://doi.org/10.3109/07420528409063910
28. *Depue R.A., Arbisi P., Spoont M.R., Krauss S., Leon A., Ainsworth B.* (1989) Seasonal and mood independence of low basal prolactin secretion in premenopausal women with seasonal affective disorder. Am J Psychiatry 146 (8): 989–995. https://doi.org/10.1176/ajp.146.8.989
29. *Djursing H., Hagen C., Møller J., Christiansen C.* (1981) Short- and long-term fluctuations in plasma prolactin concentration in normal subjects. Acta Endocrinol (Copenh) 97 (1): 1–6. https://doi.org/10.1530/acta.0.0970001
30. *Hadlow N.C., Brown S., Wardrop R., Henley D.* (2014) The effects of season, daylight saving and time of sunrise on serum cortisol in a large population. Chronobiol Int 31 (2): 243–251. https://doi.org/10.3109/07420528.2013.844162
31. *Hattori T., Munakata M.* (2015) Blood pressure measurement under standardized indoor condition may mask seasonal blood pressure variation in men with mildly elevated blood pressure. Clin Exp Hypertens 37 (4): 317–322. https://doi.org/10.3109/10641963.2014.960975
32. *Haus E., Lakatua D.J., Halberg F., Halberg E., Cornelissen G., Sackett L.L., Berg H.G., Kawasaki T., Ueno M., Uezono K., Matsuoka M., Omae T.* (1980) Chronobiological studies of plasma prolactin in women in Kyushu, Japan, and Minnesota, USA. J Clin Endocrinol Metab 51 (3): 632–640. https://doi.org/10.1210/jcem-51-3-632
33. *Holdaway I.M., Mason B.H., Gibbs E.E., Rajasoorya C., Hopkins K.D.* (1991) Seasonal changes in serum melatonin in women with previous breast cancer. Br J Cancer 64 (1): 149–153. https://doi.org/10.1038/bjc.1991.259
34. *Holdaway I.M., Mason B.H., Gibbs E.E., Rajasoorya C., Lethaby A., Hopkins K.D., Evans M.C., Lim T., Schooler B.* (1997) Seasonal variation in the secretion of mammotrophic hormones in normal women and women with previous breast cancer. Breast Cancer Res Treat 42 (1): 15–22. https://doi.org/10.1023/a:1005743626105
35. *Honma K., Honma S., Kohsaka M., Fukuda N.* (1992) Seasonal variation in the human circadian rhythm: dissociation between sleep and temperature rhythm. Am J Physiol 262 (5 Pt 2): R885–891. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1992.262.5.R885
36. *Illnerová H., Zvolsky P., Vaněcek J.* (1985) The circadian rhythm in plasma melatonin concentration of the urbanized man: the effect of summer and winter time. Brain Res 328 (1): 186–189. https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91342-3
37. *Kauppila A., Kivelä A., Pakarinen A., Vakkuri O.* (1987) Inverse seasonal relationship between melatonin and ovarian activity in humans in a region with a strong seasonal contrast in luminosity. J Clin Endocrinol Metab 65 (5): 823–828. https://doi.org/10.1210/jcem-65-5-823
38. *Koono N.* (1980) Reciprocal changes in serum concentrations of triiodothyronine and reverse triiodothyronine between summer and winter in normal adult men. Endocrinol Jpn 27 (4): 471–476. https://doi.org/10.1507/endocrj1954.27.471
39. *Коротеева Т.В., Радыш И.В., Ходорович А.М.* (2010) Сезонные изменения гормонального обмена у женщин разных этнических групп. Вестник РУДН. Серия: Медицина 4: 250–253. [Koroteeva T.V., Radysh I.V., Khodorovich A.M. (2010) Seasonal variation in blood hormone levels in wumen different ethnic grupps. RUDN Journal of Medicine 4: 250–253. (In Russ)].
40. *Kruse H.J., Wieczorek I., Hecker H., Creutzig A., Schellong S.M.* (2002) Seasonal variation of endothelin-1, angiotensin II, and plasma catecholamines and their relation to outside temperature. J Lab Clin Med 140 (4): 236–241. https://doi.org/10.1067/mlc.2002.127169
41. *Lewy H., Haus E., Ashkenazi I.E.* (2007) Possible linkage between the ability to change the period (tau) of the prolactin and cortisol rhythms in women and breast cancer risk. Chronobiol Int 24 (2): 365–381. https://doi.org/10.1080/07420520701282349
42. *Lundberg K., Josefsson A., Nordin C* (2007) Diurnal and seasonal variation of cholecystokinin peptides in humans. Neuropeptides 41 (1): 59–63. https://doi.org/10.1016/j.npep.2006.09.049
43. *Maes M., Mommen K., Hendrickx D., Peeters D., D'Hondt P., Ranjan R., De Meyer F., Scharpé S* (1997) Components of biological variation, including seasonality, in blood concentrations of TSH, TT3, FT4, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers. Clin Endocrinol (Oxf) 46 (5): 587–598. https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1997.1881002.x
44. *Martikainen H., Tapanainen J., Vakkuri O., Leppäluoto J., Huhtaniemi I.* (1985) Circannual concentrations of melatonin, gonadotrophins, prolactin and gonadal steroids in males in a geographical area with a large annual variation in daylight. Acta Endocrinol (Copenh) 109 (4): 446–450. https://doi.org/10.1530/acta.0.1090446
45. *Morera A.L., Abreu P.* (2007) Daytime/night-time and summer/winter melatonin and malondialdehyde rhythms: an inverse relationship. J Pineal Res 43 (3): 313–314. https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00467.x
46. *Nagata H., Izumiyama T., Kamata K., Kono S., Yukimura Y.* (1976) An increase of plasma triiodothyronine concentration in man in a cold environment. J Clin Endocrinol Metab 43 (5): 1153–1156. https://doi.org/10.1210/jcem-43-5-1153
47. *Nicolau G.Y., Lakatua D., Sackett-Lundeen L., Haus E.* (1984) Circadian and circannual rhythms of hormonal variables in elderly men and women. Chronobiol Int 1 (4): 301–319. https://doi.org/10.3109/07420528409063911
48. *Pääkkönen T., Leppäluoto J., Mäkinen T.M., Rintamäki H., Ruokonen A., Hassi J., Palinkas L.A.* (2008) Seasonal levels of melatonin, thyroid hormones, mood, and cognition near the Arctic Circle. Aviat Space Environ Med 79 (7): 695–699. https://doi.org/10.3357/asem.2148.2008
49. *Pham D.D., Lee J.H., Hong K.H., Jung Y.J., Kim S.J., Leem C.H.* (2020) Seasonal effects on resting energy expenditure are dependent on age and percent body fat. Clin Nutr 39 (4): 1276–1283. https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.05.021

50. *Radke K.J., Izzo J.L. Jr* (2010) Seasonal variation in haemodynamics and blood pressure-regulating hormones. J Hum Hypertens 24 (6): 410–416. https://doi.org/10.1038/jhh.2009.75

51. *Радыш И.В., Коротеева Т.В., Краюшкин С.С., Ходорович А.М., Журавлева Ю.С.* (2011) Адаптивные гормональные изменения у здоровых женщин в различные сезоны года. Вестник Волгоградского государственного медицинского университета 1 (37): 91–94. [Radysh I.V., Koroteyeva T.V., Kraiushkin S.S., Hodorovich A.M., Zhuravliova J.S. (2011) Adaptive hormonal changes in healthy women in different seasons. Journal of VolgSMU 1 (37): 91–94. (In Russ)].

52. *Reinberg A., Lagoguey M., Cesselin F., Touitou Y., Legrand J.C., Delassalle A., Antreassian J., Lagoguey A.* (1978) Circadian and circannual rhythms in plasma hormones and other variables of five healthy young human males. Acta Endocrinol (Copenh). 88 (3): 417–427. https://doi.org/10.1530/acta.0.0880417

53. *Ruhayel Y., Malm G., Haugen T.B., Henrichsen T., Bjørsvik C., Grotmol T., Saether T., Malm J., Figenschau Y., Rylander L., Levine R.J., Giwercman A.* (2007) Seasonal variation in serum concentrations of reproductive hormones and urinary excretion of 6-sulfatoxymelatonin in men living north and south of the Arctic Circle: a longitudinal study. Clin Endocrinol (Oxf) 67 (1): 85–92. https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02843.x

54. *Smals A., Kloppenborg. P., Benraad T.* (1976) Circannual cycle in plasma testosterone levels in man. Endocrinol. Metab 42 (5): 979–982. https://doi.org/10.1210/jcem-42-5-979

55. *Ткачев А.В., Золкина А.Н.* (1987) Сезонная динамика эндокринной функции у человека на Севере. Физиология человека 13 (2): 328–330. [Tkachev A.V., Zolkina A.N. (1987) Seasonal dynamics of human endocrine functions in the North. Fiziol Cheloveka 13 (2): 328–330. (In Russ)].

56. *Touitou Y., Carayon A., Reinberg A., Bogdan A., Beck H.* (1983) Differences in the seasonal rhythmicity of plasma prolactin in elderly human subjects: detection in women but not in men. J Endocrinol 96 (1): 65–71. https://doi.org/10.1677/joe.0.0960065

57. *Touitou Y., Sulon J., Bogdan A., Reinberg A., Sodoyez J.C., Demey-Ponsart E.* (1983) Adrenocortical hormones, ageing and mental condition: seasonal and circadian rhythms of plasma 18-hydroxy-11-deoxycorticosterone, total and free cortisol and urinary corticosteroids. J Endocrinol 96 (1): 53–64. https://doi.org/10.1677/joe.0.0960053

58. *Touitou Y., Fèvre M., Bogdan A., Reinberg A., De Prins J., Beck H., Touitou C.* (1984) Patterns of plasma melatonin with ageing and mental condition: stability of nyctohemeral rhythms and differences in seasonal variations. Acta Endocrinol (Copenh) 106 (2): 145–151. https://doi.org/10.1530/acta.0.1060145

59. *Ушакина Р.В.* (1977) Сезонные изменения содержания кортикостероидов у практически здоровых молодых людей в условиях муссонного климата Хабаровска. Проблемы эндокринологии 23 (1): 52–57. [Uchakina R.V. (1977) Seasonal changes of corticosteroid content in practically healthy young persons under condition of monsoon climate of Khabarovsk. Probl Endokrinol (Mosk) 23 (1): 52–57. (In Russ)].

60. *Van Cauter E.W., Virasoro E., Leclercq R., Copinschi G.* (1981) Seasonal, circadian and episodic variations of human immunoreactive beta-MSH, ACTH and cortisol. Int J Pept Protein Res 17 (1): 3–13. https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1981.tb01962.x

61. *Van Cauter E., L'Hermite M., Copinschi G., Refetoff S., Desir D., Robyn C.* (1981) Quantitative analysis of spontaneous variations of plasma prolactin in normal man. Am J Physiol 241 (5): E355–363. https://doi.org/10.1152/ajpendo.1981.241.5.E355

62. *Walker B.R., Best R., Noon J.P., Watt G.C., Webb D.J.* (1997) Seasonal variation in glucocorticoid activity in healthy men. J Clin Endocrinol Metab 82 (12): 4015–4019. https://doi.org/10.1210/jcem.82.12.4430

63. *Wehr T.A., Giesen H.A., Moul D.E., Turner E.H., Schwartz P.J.* (1995) Suppression of men's responses to seasonal changes in day length by modern artificial lighting. Am J Physiol 269 (1 Pt 2): R173–178. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1995.269.1.R173

64. *Hata T., Ogihara T., Maruyama A., Mikami H., Nakamaru M., Naka T., Kumahara Y., Nugent C.A.* (1982) The seasonal variation of blood pressure in patients with essential hypertension. Clin Exp Hypertens A 4 (3): 341–354. https://doi.org/10.3109/10641968209060747

65. *Kanikowska D., Sato M., Iwase S., Shimizu Y., Nishimura N., Inukai Y., Sugenoya J.* (2013) Effects of living at two ambient temperatures on 24-h blood pressure and neuroendocrine function among obese and non-obese humans: a pilot study. Int J Biometeorol 57 (3): 475–481. https://doi.org/10.1007/s00484-012-0574-2

66. *Sato M., Kanikowska D., Sugenoya J., Inukai Y., Shimizu Y., Nishimura N., Iwase S.* (2011) Effects of aging on thermoregulatory responses and hormonal changes in humans during the four seasons in Japan, Int J Biometeorol 55 (2): 229–234. https://doi.org/10.1007/s00484-010-0328-y

67. *Svartberg J., Jorde R., Sundsfjord J., Bønaa K.H., Barrett-Connor E.* (2003) Seasonal variation of testosterone and waist to hip ratio in men: the Tromsø study. Endocrinol. Metab 88 (7): 3099–3104. https://doi.org/10.1210/jc.2002-021878

68. *Wehr T.A., Moul D.E., Barbato G., Giesen H.A., Seidel J.A., Barker C., Bender C.* (1993) Conservation of photoperiod-responsive mechanisms in humans. Am J Physiol 265 (4 Pt 2): R846–857. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1993.265.4.R846

69. *Niehaus M., Lerchl A.* (1998) Urinary 6-sulfatoxymelatonin profiles in male Djungarian hamsters (Phodopus sungorus) responding and not responding to short-day photoperiods: possible role of elevated daytime levels. J Pineal Res 25 (3): 167–171. https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1998.tb00555.x

70. *Magri F., Locatelli M., Balza G., Molla G., Cuzzoni G., Fioravanti M., Solerte S.B., Ferrari E.* (1997) Changes in endocrine circadian rhythms as markers of physiological and pathological brain aging. Chronobiol Int 14 (4): 385–396. https://doi.org/10.3109/07420529709001459

71. *McConnell S.J., Ellendorff F.* (1987) Absence of nocturnal plasma melatonin surge under long and short artifi-

cial photoperiods in the domestic sow. J Pineal Res 4 (3): 347–348. https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1987.tb00857.x
72. *Danilenko K.V., Kobelev E., Semenova E.A., Aftanas L.I.* (2019) Summer-winter difference in 24-h melatonin rhythms in subjects on a 5-workdays schedule in Siberia without daylight saving time transitions. Physiol Behav 212:112686. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112686
73. *Hofman M.A., Skene D.J., Swaab D.F.* (1995) Effect of photoperiod on the diurnal melatonin and 5-methoxytryptophol rhythms in the human pineal gland. Brain Res 671 (2): 254–260. https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01339-j
74. *Young T.K., Kelly J.J., Friborg J., Soininen L., Wong K.O.* (2016) Cancer among circumpolar populations: an emerging public health concern. Int J Circumpolar Health 75:29787. https://doi.org/10.3402/ijch.v75.29787
75. *Reiter R.J., Tan D.X., Korkmaz A., Erren T.C., Piekarski C., Tamura H., Manchester L.C.* (2007) Light at night, chronodisruption, melatonin suppression, and cancer risk: a review. Crit Rev Oncog 13 (4): 303–328. https://doi.org/10.1615/critrevoncog.v13.i4.30
76. *Lewy A.J., Lefler B.J., Emens J.S., Bauer V.K.* (2006) The circadian basis of winter depression. Proc Natl Acad Sci U S A 103 (19): 7414–7419. https://doi.org/10.1073/pnas.0602425103
77. *Watad A., Azrielant S., Soriano A., Bracco D., Abu Much A., Amital H.* (2016) Association between seasonal factors and multiple sclerosis. Eur J Epidemiol 31 (11): 108–1089. 2016. https://doi.org/10.1007/s10654-016-0165-3
78. *Cipolla-Neto J., Amaral F.G., Afeche S.C., Tan D.X., Reiter R.J.* (2014) Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. J Pineal Res 56 (4): 371–381. https://doi.org/10.1111/jpi.12137
79. *Roelfsema F., Pijl H., Keenan D.M., Veldhuis J.D.* (2012) Prolactin secretion in healthy adults is determined by gender, age and body mass index. PLoS One 7 (2): e31305. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031305
80. *Lincoln G.A., Andersson H., Hazlerigg D.* (2003) Clock genes and the long-term regulation of prolactin secretion: evidence for a photoperiod/circannual timer in the pars tuberalis. J Neuroendocrinol 15 (4): 390–397. https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.00990.x
81. *Rajender S., Monica M.G., Walter L., Agarwal A.* (2011) Thyroid, spermatogenesis, and male infertility. Front Biosci (Elite Ed). 3: 843–855. https://doi.org/10.2741/e292
82. *Doyle J.T., Kinch S.H., Brown D.F.* (1965) Seasonal Variation in Serum Cholesterol Concentration. J Chron Dis 18: 657–664. https://doi.org/10.1016/0021-9681(65)90067-6
83. *Kreindl C., Olivares M., Brito A., Araya M., Pizarro F.* (2014) Variación estacional del perfil lipídico en adultos aparentemente sanos de Santiago, Chile [Seasonal variations in the lipid profile of apparently healthy young adults living in Santiago, Chile]. Arch Latinoam Nutr 64 (3): 145–152.
84. *Солонин Ю.Г., Марков А.Л., Бойко Е.Р., Потолицына Н.Н., Паршукова О.И.* (2014) Функциональные показатели у участников сателлитных исследований по проекту “Марс-500” на севере России в разные сезоны года. Физиология человека 40 (6): 58–66. [Solonin I.G., Markov A.L., Bojko E.R., Potolitsyna N.N., Parshukova O.I. (2014) Functional indices in participants of the satellite study of the mars-500 project in the russian north during different seasons. Human Physiology 40 (6): 634–641. (In Russ)]. https://doi.org/10.1134/S0362119714050156
85. *Danilenko K.V., Sergeeva O.Y., Verevkin E.G.* (2011) Menstrual cycles are influenced by sunshine. Gynecol Endocrinol 27 (9): 711–716. https://doi.org/10.3109/09513590.2010.521266
86. *Yie S.M., Brown G.M., Liu G.Y., Collins J.A., Daya S., Hughes E.G., Foster W.G., Younglai E.V.* (1995) Melatonin and steroids in human pre-ovulatory follicular fluid: seasonal variations and granulosa cell steroid production. Hum Reprod 10 (1): 50–55. https://doi.org/10.1093/humrep/10.1.50
87. *Acuña-Castroviejo D., Escames G., Venegas C., Díaz-Casado M.E., Lima-Cabello E., López L.C., Rosales-Corral S., Tan D.X., Reiter R.J.* (2014) Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. Cell Mol Life Sci 71 (16): 2997–3025. https://doi.org/10.1007/s00018-014-1579-2
88. *Olcese J.M.* (2020) Melatonin and Female Reproduction: An Expanding Universe. Front Endocrinol (Lausanne) 11: 85. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00085
89. *Hadlow N., Brown S., Wardrop R., Conradie J., Henley D.* (2018) Where in the world? Latitude, longitude and season contribute to the complex co-ordinates determining cortisol levels. Clin Endocrinol (Oxf) 89 (3): 299–307. https://doi.org/10.1111/cen.13754
90. *Walter K.N., Corwin E.J., Ulbrecht J., Demers L.M., Bennett J.M., Whetzel C.A., Klein L.C.* (2012) Elevated thyroid stimulating hormone is associated with elevated cortisol in healthy young men and women. Thyroid Res 5 (1): 13. https://doi.org/10.1186/1756-6614-5-13
91. *De Groef B., Van der Geyten S., Darras V.M., Kühn E.R.* (2006) Role of corticotropin-releasing hormone as a thyrotropin-releasing factor in non-mammalian vertebrates. Gen Comp Endocrinol 146 (1): 62–68. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.10.014
92. *Lim C.T., Khoo B.* (2020) Normal Physiology of ACTH and GH Release in the Hypothalamus and Anterior Pituitary in Man. In: Feingold K.R., Anawalt B., Boyce A., Chrousos G., de Herder W.W., Dungan K., Grossman A., Hershman J.M., Hofland H.J., Kaltsas G., Koch C., Kopp P., Korbonits M., McLachlan R., Morley J.E., New M., Purnell J., Singer F., Stratakis C.A., Trence D.L., Wilson D.P., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.
93. *Sarne D.* (2016) Effects of the Environment, Chemicals and Drugs on Thyroid Function. In: Feingold K.R., Anawalt B., Boyce A., Chrousos G., de Herder W.W., Dungan K., Grossman A., Hershman J.M., Hofland H.J., Kaltsas G., Koch C., Kopp P., Korbonits M., McLachlan R., Morley J.E., New M., Purnell J., Singer F., Stratakis C.A., Trence D.L., Wilson D.P., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.
94. *Woods D.R., Davison A., Stacey M., Smith C., Hooper T., Neely D., Turner S., Peaston R., Mellor A.* (2012) The cortisol response to hypobaric hypoxia at rest and post-exercise. Horm Metab Res 44 (4): 302–305. https://doi.org/10.1055/s-0032-1304322
95. *Sher L., Oquendo M.A., Galfalvy H.C., Zalsman G., Cooper T.B., Mann J.J.* (2005) Higher cortisol levels in

spring and fall in patients with major depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 29 (4): 529–534.
https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.01.011

96. *Tsuchihashi T., Uezono K., Abe I., Matsuoka M., Kawasaki T.* (1995) Seasonal variation in 24-h blood pressure pattern of young normotensive women. Hypertens Res. 18 (3): 209–214.
https://doi.org/10.1291/hypres.18.209
97. *Klein D.C., Sugden D., Weller J.L.* (1983) Postsynaptic alpha-adrenergic receptors potentiate the beta-adrenergic stimulation of pineal serotonin N-acetyltransferase. Proc Natl Acad Sci USA 80 (2): 599–603.
https://doi.org/10.1073/pnas.80.2.599
98. *Reiter R.J.* (1991) Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. Endocr Rev. 12 (2): 151–180.
https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-151
99. *Marti-Soler H., Gubelmann C., Aeschbacher S. et al.* (2014) Seasonality of cardiovascular risk factors: an analysis including over 230 000 participants in 15 countries. Heart (19): 1517–1523.
https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-305623
100. *Hermida-Dominguez R.C., Halberg F.* (1984) Assessment of the risk of mesor-hypertension. Chronobiologia 11 (3): 249–262.
101. *Кузьменко Н.В., Плисс М.Г., Цырлин В.А.* (2017) Связь между временем года и развитием вазоренальной гипертензии. Артериальная гипертензия 23 (6): 561–573. [Kuzmenko N.V., Pliss M.G., Tsyrlin V.A. (2017) The relationship between the season of the year and the vasorenal hypertension occurrence. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension 23 (6): 561–573. (In Russ)].
https://doi.org/10.18705/1607-419X-2017-23-6-561-573
102. *Sumová A., Sládek M., Jác M., Illnerová H.* (2002) The circadian rhythm of Per1 gene product in the rat suprachiasmatic nucleus and its modulation by seasonal changes in daylength. Brain Res 947 (2): 260–270.
https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02933-5
103. *Richards J., Cheng K.Y., All S., Skopis G., Jeffers L., Lynch I.J., Wingo C.S., Gumz M.L.* (2013) A role for the circadian clock protein Per1 in the regulation of aldosterone levels and renal Na+ retention. Am J Physiol Renal Physiol 305 (12): F1697–1704.
https://doi.org/10.1152/ajprenal.00472.2013
104. *Doi M., Takahashi Y., Komatsu R., Yamazaki F., Yamada H., Haraguchi S., Emoto N., Okuno Y., Tsujimoto G., Kanematsu A., Ogawa O., Todo T., Tsutsui K., van der Horst G.T., Okamura H.* (2010) Salt-sensitive hypertension in circadian clock-deficient Cry-null mice involves dysregulated adrenal Hsd3b6. Nat Med 16 (1): 67–74.
https://doi.org/10.1038/nm.2061
105. *Nonaka H., Emoto N., Ikeda K., Fukuya H., Rohman M.S., Raharjo S.B., Yagita K., Okamura H., Yokoyama M.* (2001) Angiotensin II induces circadian gene expression of clock genes in cultured vascular smooth muscle cells. Circulation 104 (15): 1746–1748.
https://doi.org/10.1161/hc4001.098048

SEASONAL DYNAMICS OF MELATONIN, PROLACTIN, SEX HORMONES AND ADRENAL HORMONES IN HEALTHY PEOPLE: A META-ANALYSIS

N. V. Kuzmenko[a,b,#], V. A. Tsyrlin[a] and , and M. G. Pliss[a,b]

[a] *Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia*
[b] *Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*
[#] *e-mail: nat.kuzmencko2011@yandex.ru*

At present, most researchers believe that circannual fluctuations in the functioning of the human body relate not so much to fluctuations in melatonin levels as to changes in the ambient temperature. The goal of this work was to study the seasonal dynamics of melatonin, prolactin, sex hormones and adrenal hormones in healthy people by a meta-analysis of publications and, based on its outcome, to draw a conclusion on the influence of the photoperiod and air temperature on seasonal changes in the functioning of the organism of present-day humans. Using Review Manager 5.3, we carried out a meta-analysis of 31 panel and 12 cross-sectional studies devoted to the seasonal dynamics of circulating hormones. We found that the level of circulating norepinephrine and aldosterone increases in winter compared to summer, which, along with the previously established winter increase in the activity of thyroid hormones, corroborates the significant effect of circannual fluctuations in air temperature on the hormonal status of present-day humans. However, since a number of studies have shown the seasonal dynamics of melatonin, while meta-analysis revealed a significant increase in the average daily prolactin level in women of reproductive age in spring compared to autumn, the influence of the photoperiod on our contemporaries cannot be ruled out completely. Hormonal changes, in turn, can cause seasonal changes in physiological parameters and reproductive functions, as well as affect the development and exacerbation of certain pathologies.

Keywords: melatonin, prolactin, cortisol, catecholamines, aldosterone, testosterone, estradiol, season

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 224–239

ОБЗОРЫ

ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СТАРЕНИЯ

© 2021 г. П. М. Маслюков[1,*], А. Д. Ноздрачев[2,3]

[1] Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль, Россия
[2] Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
[3] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
*e-mail: tpm@ysmu.ru

Поступила в редакцию 19.01.2021 г.
После доработки 16.02.2021 г.
Принята к публикации 17.02.2021 г.

Гипоталамус является важнейшим интегратором функций эндокринной, автономной, соматической нервной системы, участвует в регуляции ритмических процессов и, предположительно, в программировании процессов старения. К числу гипоталамических ядер, ответственных за реализацию программы старения, предположительно относят супрахиазмальное ядро и срединную группу ядер, включая аркуатное, вентромедиальное и дорсомедиальное ядра. Процесс старения в гипоталамусе сопровождается нарушением баланса возбуждение/торможение за счет дисрегуляции ГАМК-ергической системы, уменьшением частоты импульсации нейронов, нарушением обмена кальция, увеличением продукции оксида азота, снижением аутофагии, нарушением процессов внутриклеточного сигналинга, в частности Sirt1, mTOR, NF-κB, AMPK, P53, FoxO. Также важная роль в гипоталамическом старении принадлежит таницитам, что выражается в нарушении их связи с нейронами и барьерной функции. Стволовые клетки гипоталамуса, расположенные преимущественно в области срединной группы ядер, выделяют экзосомальные миРНК, которые также ответственны за антивозрастные эффекты этих клеток. При этом количество самих стволовых гипоталамических клеток и экзосомальных миРНК уменьшается по мере старения.

Ключевые слова: гипоталамус, старение, нейровоспаление, микроРНК
DOI: 10.31857/S0044452921030074

ВВЕДЕНИЕ

В то время как старость – это состояние, свойственное поздним годам жизни, биологический процесс старения начинается с момента рождения и необратимо продолжается в течение всей жизни. Единого мнения о механизмах, участвующих в процессе старения, не существует. В большинстве случаев теории старения можно разделить на негенетические (эпигенетические), согласно которым причина старения – это структурные изменения клеток и тканей, и генетические, связывающие старение с изменениями в передаче и экспрессии генетической информации. Также выделяют 2 большие группы: стохастические (вероятностные) теории и теории программированного старения [1, 2]. К одной из наиболее известных и глубоко разработанных концепций в геронтологии следует отнести элевационную теорию старения и формирования возрастной патологии у высших организмов, придающей ключевое значение в этих процессах возрастному повышению порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам [3]. Уже в XXI веке развитие современных методов исследования, в том числе молекулярно-биологических, генетических, нейрофизиологических, нейрохимических позволило более детально рассмотреть участие гипоталамуса в механизмах старения, что нашло свое отражение в недавних обзорах. В частности, в них делается вывод о том, что ведущей причиной старения в организмах млекопитающих является развитие гипоталамического нейровоспаления, а также уменьшение в гипоталамусе с возрастом стволовых клеток [4, 5].

Тем не менее уже упомянутые обзоры в большей мере касаются молекулярно-клеточных аспектов изменения работы гипоталамических нейронов, в то же время функциональные особенности нейронов гипоталамуса при старении остаются в тени. В настоящем обзоре мы попытались собрать воедино имеющуюся картину морфофункциональных изменений нейронов гипоталамуса и их влияние на процесс старения с учетом последних литературных данных и классических работ.

Краткая характеристика гипоталамических ядер

Гипоталамус – филогенетически старый отдел промежуточного мозга, который играет важную

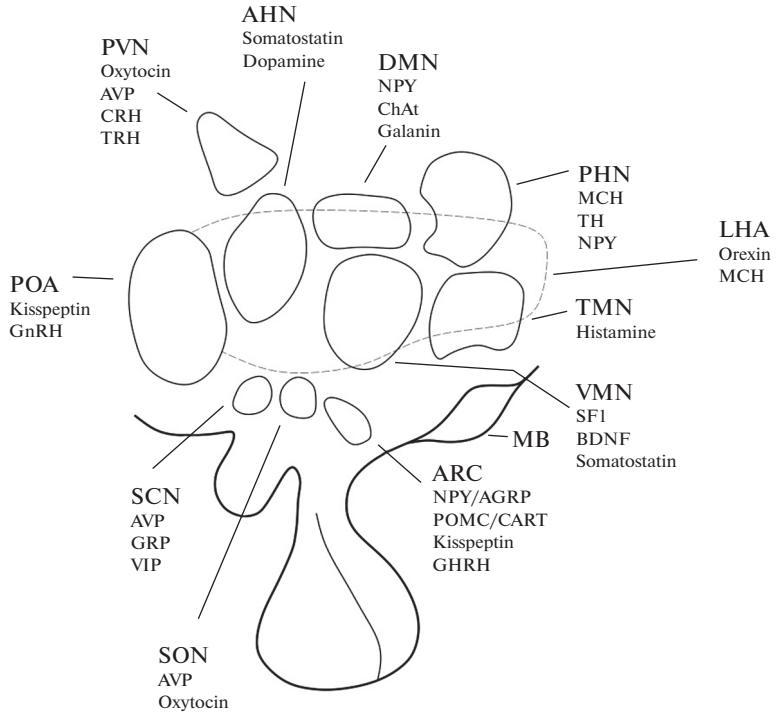


Рис. 1. Схема ядер гипоталамуса в сагиттальной плоскости и их нейрохимические особенности. В большинстве гипоталамических ядер также имеются нейроны, содержащие глутамат и ГАМК (не показаны на схеме). AHN – переднее ядро гипоталамуса; ARC – дугообразное ядро; AVP – аргинин-вазопрессин; BDNF – мозговой нейротрофический фактор; ChAT – холинацетилтрансфераза; CRH – кортикотропин-рилизинг гормон; DMN – дорсомедиальное ядро; GRP – пептид, высвобождающий гастрин; LHA – латеральная гипоталамическая область; МБ – маммиллярное тело; MCH – меланин-концентрирующий гормон; NPY/AgRP – нейропептид Y и пептид родственный агути; PHN– заднее ядро гипоталамуса; POA – преоптическая область; POMC/CART – проопиомеланокортин и транскрипт, регулируемый кокаином и амфетамином; PVN – паравентрикулярное ядро; SCN – супрахиазматическое ядро; СОН – супраоптическое ядро; TH – тирозингидроксилаза; TMN – туберомамиллярное ядро; TRH – тиротропин-рилизинг гормон; VMH – вентромедиальное ядро.

роль в поддержании постоянства внутренней среды и обеспечении интеграции функций автономной нервной, эндокринной, соматической систем. Большинство ядер гипоталамуса имеют плохо очерченные границы и, за малым исключением (супраоптическое и паравентрикулярное ядра), их трудно рассматривать как центры с узкой локализацией специфических функций. Так, например, супрахиазмальное ядро гипоталамуса (СХЯ) является главным генератором околосуточных (циркадианных) ритмов. В контроле метаболизма участвуют такие ядра гипоталамуса, как дугообразное (аркуатное, АРЯ), вентромедиальное (ВМЯ) и дорсомедиальное (ДМЯ), латеральная гипоталамическая область (ЛГ) (рис. 1). Контроль репродукции опосредуется АРЯ, преоптической областью (ПОО), включая медиальное (ПОМ) и передневентральное перивентрикулярное (AVPV) ядра [6, 7]. Туберомамиллярное ядро (ТМЯ) считается главным центром бодрствования, а также участвует в регуляции температуры тела, поведения и биоритмов [8].

Паравентрикулярное (ПВЯ) и супраоптическое (СОЯ) ядра регулируют различные процессы, в первую очередь стрессорные и адаптационные ответы организма. Клеточный состав ПВЯ неоднороден: оно состоит из крупных, мелких и дистально проецирующихся нейронов. ПВЯ связано с регуляцией реакции организма на стресс, стресс пищевого и социального поведения, лактации, беременности, деятельности щитовидной железы. Нейроны крупноклеточного ядра СОЯ регулируют водно-солевой баланс организма, а также функции щитовидной железы [9, 10].

Морфологические изменения в ядрах гипоталамуса при старении

Старение приводит к неравномерным изменениям нейронов гипоталамуса [11]. В частности, исследования, проведенные на грызунах, показали потерю нейронов в передней гипоталамической области, в ПОМ и ПВЯ [12, 13], в отличие от областей СОЯ, ДМЯ, ВМЯ и ПВЯ [12, 14, 15]. В то же время число нейронов СОЯ и ПВЯ у самцов обезьян при старении возрастало [16]. Имеются противоречивые данные в отношении изменения числа нейронов при старении в дугообразных ядрах,

где одни исследователи отмечали снижение числа нейронов [13], а другие – неизменное их число [17].

При старении размеры нейронов ряда гипоталамических ядер увеличиваются, в том числе у POMC нейронов мыши [18], а также нейронов, содержащих кисспептин и нейрокинин В у представителей обоих полов человека [19]. В то же время в СОЯ у крыс средний объем ядер нейросекреторных клеток достоверно снижается при старении как за счет уменьшения относительного количества нейронов с крупными ядрами, так и в связи с появлением большого числа малоактивных нейронов с мелкими ядрами [11].

При этом в нейронах при старении происходят морфофункциональные нарушения в энергообразующих и в белоксинтезирующих цитоплазматических структурах. Накопление в нейронах липофусцина, конечного продукта перекисного окисления липидов, индуцируемого свободными радикалами, можно считать наиболее постоянным и универсальным признаком старения нервной системы. Однако в гипоталамусе выявляются меньшие отложения этого пигмента по сравнению с другими отделами ЦНС [11].

Старение нейронов сопровождается редукцией дендритов. У старых крыс в АРЯ наблюдалось значительное сокращение количества дендритных сегментов, общей длины дендритов, а также плотности ветвления и числа шипиков [17, 20].

Электрическая активность гипоталамических нейронов при старении

Связанные со старением изменения электрофизиологических свойств различны для разных видов, областей мозга и типов нейронов [11]. В отдельных областях частота импульсации может снижаться за счет увеличения длительности следовой гиперполяризации (after hyperpolarization, AHP) [21]. Кроме того, высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных запасов кальция способствует увеличению амплитуды AHP во время старения [22]. Наконец, возрастные изменения в буферизации или экструзии Ca^{2+} могут способствовать изменению гомеостаза Ca^{2+}, что приводит к длительному Ca^{2+} ответу [23]. В дополнение к Ca^{2+}-зависимому запуску AHP, изменения в K^+-каналах, которые лежат в основе AHP, могут также изменяться с возрастом [24, 25]. Тем не менее наблюдаются разнонаправленные изменения Ca-связывающих белков при старении, в том числе в гипоталамусе. В нейронах ДМЯ и ВМЯ экспрессия кальбиндина снижается, а кальретинина возрастает у старых самцов и самок крыс [26].

С возрастом в ЦНС наблюдается нарушение баланса возбуждение/торможение за счет дисрегуляции ГАМК-ергической системы. При этом наблюдается уменьшение количества тормозных синаптических контактов, частоты спонтанных ТПСП и амплитуды токов при стимуляции ГАМК-рецепторов [27].

В POMC-содержащих гипоталамических нейронах старых животных наблюдалось уменьшение частоты импульсации, что было связано с повышенной активностью mTOR [28]. В ПОО при старении наблюдается значительное снижение частоты спонтанных спайков гонадотропин-рилизинг гормон (ГнРГ)-выделяющих нейронов, сопровождающееся повышенной вариабельностью активности и уменьшением генерации паттернов [29]. Нейроны старых животных продемонстрировали значительное снижение амплитуды следовой деполяризации (depolarizing afterpotential, DAP) после кратковременного спайкового залпа. Уменьшение DAP после вспышки спайков может привести к более коротким пачкам импульсов, еще меньшим DAP, уменьшенной частоте разрядов и нарушению ритмического рисунка разрядов, что может приводить к нарушению регуляции высвобождения ГнРГ. Эстрадиол существенно ослаблял натриевый ток, лежащий в основе потенциала действия в ГнРГ-позитивных нейронов у молодых, но не у старых мышей *in vivo*. При этом у старых мышей, в отличие от молодых, эстрадиол не оказывал влияния на DAP в потенциале действия ГнРГ-позитивных нейронов [30]. Таким образом, у старых животных наблюдается ослабление регуляции деятельности гипоталамических нейронов по принципу отрицательной обратной связи, что также подтверждает идеи В.М. Дильмана [3] о возрастном повышении порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам.

Супрахиазмальное ядро и ритмические процессы

СХЯ принадлежит главная роль в синхронизации всех ритмов и интеграции информации от периферии для генерации согласованных системных ритмов в организме. Помимо СХЯ, эпифиз также играет роль в синхронизации биологических функций с циклами свет/темнота посредством ритмического синтеза мелатонина и контроля функций гипофиза [31, 32].

По современным представлениям, молекулярный механизм генерации циркадианных временных сигналов складывается из самоподдерживающихся петель транскрипционно-трансляционной обратной связи, когда белки, продуцируемые определенными циркадными генами, негативно регулируют их собственную транскрипцию. В основе модели работы СХЯ лежат два семейства генов: Per1, Per2 и Per3, а также Cry1 и Cry2. Транскрипция этих генов активируется с началом циркадианного дня гетеромерным комплексом, содержащим CLOCK и BMAL1-белки (положительные регуляторы петли), которые управляют экспрессией белков PERIOD (PER) и CRYPTOCHROME (CRY), (отрица-

тельных регуляторов) через регуляторные последовательности энхансерного бокса (E-box). К концу циркадного дня комплексы PER – CRY накапливаются в ядре и начинают подавлять собственную экспрессию. В течение следующей суточной ночи уровни мРНК PER и CRY падают, а существующие комплексы PER – CRY разрушаются. Эта деградация позволяет циклу повторно инициироваться приблизительно через 24 ч после предыдущей инициации транскрипции. Цикл стабилизируется дополнительными петлями, в которых CLOCK и BMAL1 управляют E-box-опосредованной циркадной экспрессией ядерных рецепторов RORα, REV-ERBα (также известных как NR1D1) и REV-ERBβ (также известных как NR1D2), которые, в свою очередь, действуют через последовательности элемента ответа REV (RRE) для активации и подавления транскрипции BMAL1 соответственно. Мутации в генах этих ядерных рецепторов изменяют амплитуду и период ритмов активности [33, 34].

Отдельные нейроны СХЯ в культуре могут поддерживать клеточно-автономные циркадные циклы спонтанных разрядов, внутриклеточной концентрации кальция и экспрессии циркадных генов, управляемые их транскрипционно-трансляционной обратной связью [35]. Однако у диспергированных одиночных клеток ритмы довольно неточны. Напротив, когда связь цепей СХЯ сохраняется в органотипических культурах срезов, эти циклы сильны, тесно синхронизированы и, в отличие от циклов в изолированных нейронах, устойчивы к ослабляющим эффектам генетических делеций некоторых компонентов транскрипционно-трансляционной связи и могут поддерживать циркадные колебания неопределенно долго с удивительной надежностью, устойчивостью и точностью [36].

Ключевым результатом СХЯ в управлении циркадными ритмами являются циклические колебания электрической активности с частотами от 1 до 10 Гц, в условиях *in vivo* и в культуре [37, 38]. Независимо от того, ведет ли организм обычно ночной или дневной образ жизни, электрическая (и сопутствующая метаболическая) активность в СХЯ выше в течение циркадного дня: колебания электрической активности кодируют дневное время, а не поведенческое состояние. Ежедневные изменения в ритмической активности определяют поведенческие циклы, при этом начало и смещение спонтанной активности у ночных грызунов синхронизируются по фазе с серединой падения и подъема в разрядах нейронного ансамбля СХЯ соответственно [39]. Эта модель верна и для видов, активных днем, за исключением того, что поведенческие последствия противоположны. Эфферентные пути, посредством которых СХЯ связывается с центрами в гипоталамусе и стволе мозга, которые контролируют возбуждение, сон, нейроэндокринный статус и вегетативный статус, выявлены в общих чертах и, вероятно, включают как синаптическое высвобождение ГАМК (от всех нейронов СХЯ) и паракринная секреция нейропептидов (из определенных групп клеток СХЯ) в паттернах, которые отражают электрическую ритмическую активность [34, 37].

Циркадная ритмичность может снижаться с возрастом [40, 41]. Отмечено, что нарушение циркадных ритмов из-за выключения Bmal1 приводит к преждевременному старению у мышей [40]. Профили циркадной транскрипции в стареющих клетках меняются. Однако старение не просто вызывает снижение циркадной ритмичности в экспрессии генов, которые активны в молодом возрасте, а новый набор генов начинает цикл у старых мышей [42]. Тем не менее работа молекулярных циркадных механизмов, в частности, периодическая экспрессия Per2 существенно не изменялась у старых грызунов по сравнению с молодыми [43].

У людей с возрастом наблюдаются аномальные, фрагментированные циклы активности и отдыха, что убедительно свидетельствует о дисфункции ритмического механизма [44]. Подобное возрастное снижение циркадной ритмичности наблюдается у макак-резусов наряду с измененными ритмами мелатонина и снижением качества сна. Эти изменения усугубляются при отсутствии фотопериодического сигнала [45].

Старение влияет на гибкость главного циркадного водителя ритма. Наблюдается возрастное снижение синхронизации и амплитуды ритмов электрической активности в нейронах СХЯ [25, 42], частично из-за возрастного снижения экспрессии нейротрансмиттеров, такие как ВИП и ГАМК [46, 47]. Старые серые мышиные лемуры менее чувствительны к изменениям длины дня, чем взрослые животные, что отражает измененные способности адаптации к изменению продолжительности дня [48], при этом старение у них сопровождается изменением циркадных ритмов ВИП и аргинин-вазопрессина в СХЯ, тем самым нарушая синхронизацию нейральных сайтов-мишеней [49]. Однако у самцов макак-резусов не удалось обнаружить очевидного влияния возраста в мРНК и уровнях экспрессии белков основных тактовых генов или генов, связанных с передачей сигналов СХЯ и нейротрансмиссией [50]. Старение меняет ритм внутриклеточных уровней кальция в нейронах СХЯ, с более высокими значениями ночью, по сравнению с днем. Циркадная модуляция активности BK-каналов нарушается из-за снижения BK-токов в ночное время. Этот уменьшенный ток у старых животных уменьшает AHP, деполяризует мембранный потенциал покоя, расширяет потенциал действия и увеличивает внутреннюю концентрацию Ca^{2+} [25].

Таким образом, имеющиеся данные позволяют предположить, что с возрастом молекулярные часы продолжают нормально функционировать в нейронах СХЯ, тогда как электрическая активность и количество нейротрансмиттеров в нейронной сети

СХЯ уменьшаются. Снижение амплитуды эфферентного сигнала из СХЯ снижает его способность управлять периферическими циркадными ритмами, и также может способствовать повышению порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам.

Медиобазальный гипоталамический комплекс

ВМЯ и АРЯ в ряде работ рассматриваются как медиобазальный гипоталамус, учитывая их роль в регуляции пищевого и полового поведения. В АРЯ проопиомеланокортиновые (proopiomelanocortin, POMC) нейроны секретируют α-меланоцитстимулирующий гормон (α-МСГ), который действует на меланокортиновые рецепторы MC3R и MC4R. В этих же нейронах выделяется CART (cocaine-amphetamine-regulated transcript – регулируемый кокаином и амфетамином транскрипт). Оба этих гормона обладают анорексигенным действием, т.е. они снижают аппетит и вызывают ощущение сытости. Кроме того, α-МСГ, стимулируя симпатические центры, повышает расход энергии. В аркуатных ядрах также содержатся нейроны, вырабатывающие орексигенные (т.е. стимулирующие аппетит) вещества. В NPY-нейронах выделяется нейропептид Y (NPY), а в AgRP-нейронах – родственный белку Агути пептид (Aguti-related peptide, AgRP). NPY стимулирует пищевое поведение, а AGRP пептид является обратным агонистом рецепторов меланокортинов MC3R и MC4R, являясь, таким образом, антагонистом α-МСГ. Имеются данные о том, что AGRP не только препятствует связыванию пептидов меланокортинового семейства с MCR, но и сам выступает в качестве специфичного агониста MC4R, запуская независимые от G-белков аррестиновые сигнальные каскады, что ведет к активации каскада митогенактивируемых протеинкиназ (МАПК) [51]. Отростки POMC-, NPY- и AgRP-нейронов проецируются в гипоталамические центры, регулирующие потребление пищи – в ЛГ, ДМЯ, ВМЯ и ПВЯ. Кроме того, указанные нейроны оказывают влияние на ядро одиночного пути, в которое поступает сенсорная информация с внутренних органов [52].

В свою очередь на POMC-, NPY- и AgRP-нейронах имеются рецепторы к регуляторным пептидам, вырабатывающимся в различных органах и тканях. В частности, инсулин, а также лептин стимулируют POMC/CART- и тормозят NPY/AgRP-нейроны. Грелин, напротив, стимулирует NPY- и AgRP-нейроны и тормозит POMC/CART [52].

Нейроны, выделяющие соматотропин-рилизинг- гормон (СРГ), расположены в АРЯ, а экспрессирующие соматостатин – в ВМЯ. СРГ стимулирует, а соматостатин ингибирует выделение соматотропного гормона (СТГ) гипофизом. Уровни СТГ и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) в крови являются самыми высокими в подростковом возрасте и постепенно снижаются, становясь едва заметными у пожилых людей [53]. Основываясь на роли СТГ в повышении метаболизма, возрастное снижение СТГ и IGF-1 может способствовать саркопеническому ожирению у пожилых людей. Тем не менее линии трансгенных мышей со сверхэкспрессией СТГ демонстрировали более короткую продолжительность жизни [54]. На сегодняшний день механизм возрастного снижения уровней СТГ и IGF-1 остается неясным. Уровень СРГ в срединном возвышении снижался у старых крыс, тогда как уровень соматостатина в срединном возвышении и уровни СРГ и соматостатина в их соме не изменялись. Примечательно, что соматостатин-индуцированное ингибирование СТГ было сенсибилизировано у старых крыс, что указывает на возможную причину возрастного снижения уровня СТГ в плазме [5].

В дорсомедиальной зоне задней части АРЯ локализована группа нейронов, секретирующих кисспептин. Контроль репродукции в зависимости от уровня метаболизма опосредуется через связи кисспептин-секретирующих нейронов АРЯ с ГнРГ-нейронами ПОМ и AVPV ядер гипоталамуса. При этом рост секреции ГнРГ под влиянием инфузии кисспептина в AVPV зависит от времени суток. Эту циркадианную периодичность могут обеспечивать синаптические связи АРЯ и AVPV с вазопрессин-содержащими нейронами СХЯ. Роль кисспептинергических нейронов нейроэндокринного гипоталамуса в метаболическом обеспечении таких энергоемких процессов репродукции, как беременность, роды и лактация подчеркивается экспрессией в нейронах гена рецептора трийодтиронина – TRα [7].

ВМЯ известно своим участием в регуляции сексуального и пищевого поведения, хотя оно также регулирует кровяное давление и болевые пути [55, 56]. Повреждения в ВМЯ изменяют пищевое поведение и связаны с гиперфагией и развитием ожирения [57]. ВМЯ функционирует как датчик насыщения и, как было показано, также реагирует и на гипогликемию, путем ингибирования производства инсулина и стимулирования высвобождения глюкагона и катехоламинов. Внутренние часы ВМЯ играют роль в контроле периферических циркадных ритмов [58].

Считается, что вентролатеральная часть ВМЯ в основном отвечает за половое поведение у самок крыс и связана с присутствием нейронов, которые экспрессируют рецепторы эстрогена [56], в то время как дорсомедиальная часть больше связана с регуляцией аппетита [59]. Экспрессия рецепторов лептина в ВМЯ отражает важность этого ядра в ответ на вызванные лептином изменения пищевого поведения, метаболизма и регулирование баланса энергии [60]. ВМЯ также содержит нейроны, которые отвечают на изменения внеклеточной глюкозы [55].

Стероидогенный фактор 1 (SF-1) представляет собой ядерный рецептор, экспрессируемый в над-

почечниках, гонадах, переднем гипофизе и ВМЯ [61]. SF-1 имеет жизненно важное значение не только для развития ВМЯ, но и для его физиологических функций [62]. У мышей, у которых отсутствовал рецептор лептина в SF-1-экспрессирующих нейронах ВМЯ, проявлялись признаки метаболического синдрома, включая ожирение, повышенный уровень инсулина и лептина, нарушение толерантности к глюкозе [59]. Удаление SF-1 в ВМЯ приводило к увеличению уровня инсулина и лептина в крови у молодых и старых мышей, снижение физической активности, нарушение термогенеза, активности бурой жировой ткани [63] вызывало ожирение и аномальное развитие ВМЯ [64], а у людей мутации SF-1 приводили к ожирению и диабету 2-го типа [65]. При старении у самцов и самок крыс в ВМЯ экспрессия SF-1 снижается [66]. Таким образом, SF-1 играет защитную роль против метаболических стрессоров, включая старение и диету с высоким содержанием жиров.

Таниците – высокоспециализированные эпендимные клетки, выстилающие стенку третьего желудочка. Их базальные отростки контактируют не только с нейронами прилежащих ядер гипоталамуса, но и кровеносными сосудами, в том числе с кровеносными сосудами портальной системы гипофиза. Таниците локализованы в области медиабазального гипоталамуса, осуществляют мониторинг и транспорт многих веществ (гормонов, метаболитов, ростовых факторов), участвуют в создании гемато-ликворного и ликворо-энцефалического барьеров, регулируют высвобождение рилизинг-факторов нейросекреторными клетками гипоталамуса. В дополнение к своим барьерным свойствам, таниците обладают способностью определять уровень глюкозы в крови и играют фундаментальную и активную роль в передаче циркулирующих метаболических сигналов к нейронам гипоталамуса, которые контролируют потребление пищи. Более того, предполагается, что в соответствии с их предполагаемым происхождением из радиальных глиальных клеток, таниците наделены свойствами нервных стволовых клеток и могут реагировать на пищевые или репродуктивные сигналы, модулируя гипоталамический нейрогенез. Таким образом, таниците могут составлять важное звено в петле, соединяющей поведение, гормональные изменения, передачу сигналов, активацию центральных нейронов, что в свою очередь меняет поведение [67].

Морфология таницитов изменяется при старении. Хотя общее количество самих клеток не меняется с возрастом, но при этом отмечается потеря их отростков и увеличивается экспрессия белков промежуточных филаментов цитоскелета, например, глиального фибриллярного кислого белка (GFAP). По данным электронной микроскопии, у старых животных нарушается взаимодействие между нервными окончаниями ГнРГ-нейронов и отростками таницитов. Было также показано, что старение изменяет таницитарный барьер до такой степени, что вызывает нарушение структурной целостности гемато-ликворного барьера в срединном возвышении. Поскольку известно, что у старых животных наблюдаются нарушения нейроэндокринного контроля энергетического гомеостаза, в том числе ослабленная реакция на голодание, можно предположить, что изменения в пластичности гематоэнцефалического барьера могут способствовать возникновению возрастных метаболических заболеваний. Таниците, помимо передачи циркулирующих сигналов из крови в спинномозговую жидкость, могут также действовать как «очистители мозга», устраняя избыток токсичных белков, вырабатываемых у пациентов с нейродегенеративными расстройствами, защищая таким образом гипоталамус [67].

Дорсомедиальное гипоталамическоя ядро

ДМЯ содержит глутамат- и ГАМК-ергические нейроны, последние составляют большинство [68]. Было обнаружено, что ГАМК-ергические нейроны в вентральной части ДМЯ, экспрессирующие рецептор лептина, подавляют потребление пищи путем ингибирования нейронов АРЯ, которые экспрессируют AgRP [69]. Кроме того, было показано, что нейроны, экспрессирующие рецептор лептина в дорсальной области ДМЯ, играют роль в контроле расхода энергии и массы тела [70].

ДМЯ является важным ядром для интеграции циркадной информации из СХЯ и периферических органов для модуляции широкого разнообразия поведения и физиологических процессов, участвует в циркадной регуляции приема пищи, питья, секреции кортикостерона, двигательной активности и бодрствования, связанных с СХЯ [71, 72]. ДМЯ получает прямые и косвенные проекции от СХЯ, а также от АРЯ, ВМЯ и ЛГ [73, 74]. Кроме того, аксоны нейронов ДМЯ формируют проекции в регионы, важные для регуляции состояния сон/бодрствования: тормозные ГАМК-ергические проекции к вентролатеральной преоптической области, отвечающей за сон, глутаматергические возбуждающие проекции к центрам пробуждения в голубом пятне и к орексин-содержащим нейронам ЛГ [74]. ДМЯ также дает проекции к паравентрикулярному ядру гипоталамуса, которое регулирует взаимодействие гипоталамуса с автономной нервной системой и эндокринной системой [75].

Предполагается, что ДМЯ является важным циркадным центром в мозге млекопитающих и сам по себе способен поддерживать функцию автономных часов [76]. Галанин-экспрессирующие нейроны в ДМЯ вовлечены в баланс медленноволнового/парадоксального сна посредством различных проекций к ПОО и бледному шару [77]. В соответствии с этой ролью, повреждение ДМЯ у крыс изменяет распределение медленноволновой и парадок-

сальной фазы сна в циркадном цикле [78]. Экспрессия циркадных генов и маркеры нейрональной активности в ДМЯ также зависят от времени приема пищи, как было подчеркнуто в исследованиях ограниченного кормления на лабораторных грызунах [79]. Таким образом, ДМЯ является вероятным кандидатом на роль анатомического реле для наложения суточного ритма и зависимых от метаболического состояния ответов на классические схемы сна.

Компактная часть ДМЯ содержит самоподдерживающийся автономный циркадный осциллятор, активность которого зависит от потребления пищи. Одна из основных характеристик этой части ДМЯ, которая отличает его от других периферических циркадных осцилляторов, заключается в том, что амплитуда колебаний экспрессии Per1/Per2 была намного выше при ограничении питания, чем при питании *ad libitum*; в то время как ограничение питания действительно сдвигает фазу других генераторов, не связанных с СХЯ, их амплитуды не отличаются явно между ограниченным и неограниченным питанием [71]. Примечательно, что ДМЯ оказался единственным локусом мозга, отличным от СХЯ, который содержит плотно сгруппированные нейроны, демонстрирующие устойчивые колебания экспрессии Per1 и Per2 в условиях, когда доступность еды ограничена запланированным фиксированным временем, тогда как гены Per диффузно экспрессируются почти во всех отделах ЦНС и периферических тканях. Повреждения нейронов ДМЯ у крыс блокируют бодрствование, повышение двигательной активности и внутренней температуры тела перед приемом пищи [80].

Изменения гипоталамической регуляции тиреоидной оси при старении

Тиротропин-рилизинг-гормон (тиролиберин, ТРГ) в первую очередь известен как центральный регулятор оси гипоталамус–гипофиз–щитовидная железа. ТРГ синтезируется в различных областях мозга и в нескольких ядрах гипоталамуса. У крысы гипофизиотропные нейроны, выделяющие ТРГ, локализуются в медиальной и каудальной зонах, у мыши – в переднемедиальных зонах ПВЯ. ТРГ-содержащие-нервные окончания контактируют с отростками β2 таницитов в срединном возвышении. β2-таниците экспрессируют пироглутамилпептидазу II (PPII), которая специфически разрушает ТРГ, регулируя количество транспортируемого ТРГ [81].

Сигналы окружающей среды, такие как температура или свет, передаются к ТРГ нейронам ПВЯ через афференты, исходящие от ствола мозга или от СХЯ. Лимбическая система, активированная в ответ на стрессово-эмоциональные стимулы, также передает сигналы на ТРГ нейроны ПВЯ. Активность гипофизиотропных ТРГ-ергических нейронов определяется отрицательной обратной связью, осуществляемой гормонами щитовидной железы, нейрональными и гормональными воздействиями, реагирующими на характер питания, и входными сигналами, активируемыми при острой немедленной потребности. Стрессовые ситуации, такие как голодание или ограничение пищи, воспаление, гипо- или гипертиреоз, изменяют активность нейронов и экспрессию ТРГ прямо или косвенно на протяжении комбинированного действия различных эффекторов. В формировании циркануальных ритмов изменения массы тела и репродукции, наряду с мелатонином, основная роль принадлежит гормонам тиреотропину и трийодтиронину (Т3) [81].

Однако ТРГ также оказывает множество эффектов на центральную нервную систему, независимо от его активности в оси. С возрастом наблюдается снижение синтеза, экспрессии и активности ТРГ. При этом уменьшение уровня ТРГ может способствовать развитию нейродегенеративных заболеваниях старения, включая болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона. В дополнение к этому, в большинстве исследований на животных также сообщается о снижении уровня циркулирующего тироксина (Т4) с возрастом. Однако изменения содержания тиротропного гормона (ТТГ) и Т3 с возрастом менее последовательны и, по-видимому, зависят от пола и вида животного. Обнаружено, что с возрастом у самок крыс концентрация Т3 и Т4 уменьшается, в то время как уровень ТТГ оставался неизменным, однако у старых самцов крыс обнаружено снижение мРНК Т4 и ТТГ, но без изменений в сыворотке уровня Т3 [82].

У людей более низкие уровни ТТГ были обнаружены у пожилых людей, хотя не было обнаружено значительных различий в уровнях ТРГ и свободного тироксина в сыворотке крови между молодыми, среднего возраста и пожилыми людьми (Mazzoccoli et al., 2010). Снижение реакции ТТГ на стимуляцию ТРГ наблюдается с возрастом в человеческой популяции, в дополнение к снижению секреции и деградации Т4 и снижению синтеза Т3 [83].

Регуляция репродуктивных процессов при старении

Аксоны ГнРГ-содержащих нейронов, расположенные в ПОО, проецируются к срединному возвышению и выделяют ГнРГ пульсирующим образом. Деятельность ГнРГ-выделяющих нейронов осуществляется под контролем кисспептина, источником которого являются нейроны, расположенные в АРЯ и AVPV [84, 85]. С возрастом репродуктивные функции, включая фертильность и статус половых гормонов, естественным образом снижаются как у женщин, так и у мужчин. У человека женское репродуктивное старение характеризуется менопаузой, которая включает резкие репродуктивные и эндокринологические сдвиги, в том числе повышение уровня гонадотропинов (лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирую-

щего (ФСГ) гормонов), а также прекращение менструального цикла. Тем не менее уровни эстрадиола существенно не различаются между женщинами в ранней и поздней постменопаузе, однако уровни сывороточного ЛГ, ФСГ значительно снижаются между 50 и 80 годами жизни. Хотя половые ритмы самок грызунов не демонстрируют человеческих дихотомических переходов при репродуктивном старении, они постепенно становятся ациклическими с нарушением выброса гонадотропинов. У старых крыс уровень ЛГ снижается, в то время как уровень ФСГ, так же, как и у женщин в постменопаузе, повышен [85]. Мужчины и самцы грызунов испытывают связанное со старением снижение уровней репродуктивной активности, тестостерона и ГнРГ, при этом в некоторой степени сохраняя свою фертильность, в то же время уровень ЛГ у мужчин при старении повышается [5]. Повышение уровня гонадотропинов в менопаузе связано со снижением чувствительности гонад к ним. Тем не менее важно отметить активность генератора импульсов ГнРГ, что отражается в пульсации ЛГ, заметно снижается у старых самок и самцов. Однако количество нейронов кисспетин-позитивных нейронов уменьшается с возрастом у самок и у самцов крыс, в то время как количество ГнРГ-содержащих нейронов не изменяется, но снижается их активность [84]. В то же время данные относительно содержания ГнРГ у женщин при старении противоречивы. По одним данным, содержание ГнРГ в гипоталамусе у женщин при старении снижается [86], по другим – уровень гипоталамической мРНК ГнРГ в постменопаузе возрастает [87].

Старение и внутриклеточные сигнальные пути гипоталамических нейронов

Одним из важных классов белков, управляющих воздействием мозга на старение, является семейство сиртуинов. Сиртуины являются эволюционно консервативным семейством NAD + -зависимых деацилаз и играют решающую роль в долголетии у различных модельных организмов, включая дрожжей, червей, мух и мышей [88]. Сиртуины взаимодействуют с элементами других путей, которые также способствуют контролю старения, включая insulin–forkhead box protein O (FOXO) и mechanistic target of rapamycin (mTOR) во многих клетках [89, 90]. Гипоталамический SIRT1 влияет на метаболические пути в периферических органах, включая ремоделирование бурой жировой ткани [91], чувствительность к инсулину и системный метаболизм глюкозы и липидов [92]. У старых самцов и самок наблюдалось уменьшение экспрессии Sirt1 в ДМЯ. В ВМЯ экспрессия Sirt1 с возрастом не менялась [93]. Вполне вероятно, что головной мозг через сигнализацию сиртуина является важной частью сети, которая регулирует старение по всему телу.

Многие исследования связывают действие сиртуинов с функцией конкретных нейронов или областей гипоталамуса, таких как АРЯ, ВМЯ, ДМЯ и СХЯ [88, 94]. SIRT1 опосредует центральный циркадный контроль в СХЯ [95]. У самцов и самок трансгенных мышей, избыточно экспрессирующих Sirt1 (мышей BRASTO), средний и максимальный срок жизни повышен. Предполагается, что такое увеличение продолжительности жизни у таких мышей связано со специфической активацией нейронов ДМЯ [96].

Мишенью рапамицина у млекопитающих (mammalian target of rapamycin, mTOR) является серин/треониновая киназа, которая принадлежит к семейству киназ, родственных фосфоинозитид-3-киназе (PI3K), с С-концевым доменом киназы, способным реагировать на изменения в уровни энергии за счет регулирования множественных клеточных процессов, таких как клеточный цикл, рост клеток, выживание и аутофагия. MTOR участвует в двух различных белковых комплексах, mTOR комплекс 1 (mTORC1) и mTOR комплекс 2 (mTORC2), каждый из которых модулируется разными стимулами. mTORC1 ингибируется рапамицином, mTORC2 значительно менее чувствителен к рапамицину. mTORC1 интегрирует гормональные и сигналы внешней среды, включая доступность аминокислот и глюкозы для регулирования ключевых анаболических процессов, включая увеличение синтеза белка и аутофагию. mTORC2 играет роль в организации цитоскелета и является важным эффектором передачи сигналов инсулина/PI3K [97]. Доступность питательных веществ и кислорода приводит к активации пути mTOR, что приводит к анаболическим процессам, таким как биосинтез белков и липидов. Во время истощения энергии нарушение регуляции сигнального пути mTOR может привести к патофизиологическим состояниям, таким как ожирение, сердечно-сосудистые, репродуктивные и нервные расстройства, а также к онкологическим и другим заболеваниям, связанным с нарушениями иммунитета [98].

Хотя и mTORC1, и его основной субстрат S6K1 повсеместно экспрессируются в головном мозге, их активные формы почти ограничены гипоталамусом, а точнее АРЯ, ПВЯ, ВМЯ и СХЯ. После голодания наблюдалась повышенная экспрессия S6K1 в нейронах АРЯ без значительных изменений после введения лептина. В отличие от АРЯ, лептин ингибирует сигнальные пути mTORC1 в ВМЯ [99]. Усиление сигнального пути mTORC1 в нейронах POMC гипоталамуса способствует возрастному ожирению, вызывая сайленсинг этих нейронов из-за усиления регуляции активности K_{ATP}-каналов, сопровождаемой ассоциированной со старением экспрессией порообразующей субъединицы Kir6.2. При этом ингибитор mTORC1 рапамицин восстанавливал нейронную возбудимость, а также влиял на морфологию POMC нейронов, уменьшая раз-

мер сомы у старых животных [18, 100]. Активация mTORC1 в нейронах POMC путем делеции гена Tsc1 также приводит к увеличению сомы POMC нейронов и уменьшению проекций нейритов в ПВЯ, а хроническая внутрибрюшинная инъекция высоких доз рапамицина восстанавливает проекцию [101]. Активность S6K1 в медиобазальном гипоталамусе напрямую модулируется характером питания, повышаясь при повторном приеме пищи после 24-часового периода голодания, а также при введении лептина [102], что указывает на то, что S6K отвечает на важные пищевые и гормональные сигналы для управления потреблением энергии с обратной связью. Ингибирование AMPK в ВМЯ увеличивает общий термогенез за счет стимуляции бурой жировой ткани посредством симпатической нервной системы [99]. Гипоталамическая активность mTORC2 увеличивается с возрастом у мышей, и генетическое удаление этого комплекса в нейронах гипоталамуса мыши вызывает повышенную жировую массу, нарушенный гомеостаз глюкозы и снижение продолжительности жизни [103].

Факторы транскрипции семейства FOXO вовлечены в метаболизм, долголетие и пролиферацию клеток [104]. FOXO частично регулируется в этих процессах с помощью посттранскрипционных модификаций, включая фосфорилирование и ацетилирование. FOXO1 модулирует потребление пищи, регулируя орексигенные гены Agrp и анорексигенные Pomc в гипоталамусе мышей. В нейронах АРЯ гипоталамуса FOXO1 локализуется в ядрах при голодании и в цитоплазме после приема пищи [105].

Установлено, что старение связано с повышенной активацией семейства FOXO. TNF-α увеличивает активность FOXO1 за счет ингибирования его фосфорилирования. Повышенная активность FOXO1 ингибирует ген gnrh1 и активирует воспалительный путь NF-κB (см далее), тем самым нарушая секрецию ГнРГ. Повышение активности FOXO1 способствует индуцированному TNF-α снижению высвобождения ГнРГ у грызунов [106].

Оксид азота (NO) представляет собой внутри- и межклеточный медиатор, который выполняет различные функции сигнализации [107]. Как у взрослых, так и у новорожденных экспрессия нейрональной NO-синтазы в значительной степени ограничивается областями гипоталамуса, которые участвуют в контроле над функциями организма, такими как энергетический баланс и размножение. NO-ергические нейроны были обнаружены в ДМЯ, ВМЯ, ПВЯ, а также в ЛГ [108, 109].

Высокий уровень активных форм кислорода и пероксинитрита, метаболита NO наблюдается в мозге при старении [110]. Чрезмерный синтез NO ответственен за гибель клеток, в то же время повышенное высвобождение NO может быть защитным механизмом, пытающимся противодействовать апоптозу [111]. NO играет роль в нейродегенеративных заболеваниях, эпилепсии, воспалении и ишемии. Было замечено, что в этих условиях экспрессия и активность нейрональной NO-синтазы возрастают [112]. NO может играть защитную роль во время старения, а нейроны, экспрессирующие nNOS, как сообщается, более устойчивы к нейротоксическим воздействиям [110]. У молодых животных nNOS не определялась в АРЯ, а в ДМЯ и ВМЯ выявлялись нейроны, иммунореактивные к нейрональной NO-синтазе со слабой иммунофлуоресценцией. У старых крыс NO-ергические нейроны появлялись в большом количестве в АРЯ, в ДМЯ и ВМЯ количество нейронов, содержащих нейрональную NO-синтазу, достоверно увеличивалось [109].

Гипоталамическое воспаление и старение

Старый мозг характеризуется повышенным уровнем воспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1β (IL 1β), IL 6 и фактор некроза опухолей (TNF), и сниженным уровнем противовоспалительных цитокинов, таких как IL 10 и IL 4. Несколько воспалительных сигнальных путей в медиобазальном гипоталамусе связаны с развитием ожирения и связанного с ним метаболического метаболического синдрома, в частности с активацией таких сигнальных компонентов, как Toll-подобный рецептор 4 (TLR4), ген 88 первичного ответа миелоидной дифференцировки (MyD88), ядерный фактор каппа B (NF-κB) и ингибитор β-субъединицы киназы ядерного фактора ядра (IKKβ) и c-Jun N-концевая киназа (JNK) [4, 113, 114]. Более поздние исследования дополнительно указали на значительное вовлечение этого гипоталамического микровоспаления в механизмы старения. Ингибирование передачи сигналов NF-κB селективно в медиобазальном гипоталамусе продлевает продолжительность жизни у мышей, тогда как активация передачи сигналов NF-κB селективно сокращает их продолжительность жизни [4, 115].

Недавние исследования показали, что ГАМК-ергические нейроны и нейроны, содержащие нейротрофический мозговой фактор (BDNF) в медиобазальном гипоталамусе, подвержены вызванному астроцитами гипоталамическому микровоспалению, вызванному диетой с повышенным содержанием жиров. В условиях гипоталамического микровоспаления астроциты в медиобазальном гипоталамусе теряют терминальные отростки, что приводит к снижению поглощения астроцитами ГАМК, при этом повышение содержания ГАМК в межклеточной среде ингибирует нейроны, содержащие BDNF [116]. Также существуют обратные отношения: введение вирусного вектора, содержащего ген BDNF в медиобазальный гипоталамус у мышей среднего возраста, снижает экспрессию воспалительных генов в гипоталамусе и связанное со старением метаболическое нарушение регуля-

ции [117]. Интересно, что $ГАМК_В$ рецептор в POMC-содержащих нейронах оказывал протективное действие в отношении гипоталамического воспаления, ожирения и инсулинорезистентности у мышей [118]. Длительное воспаление в гипоталамусе может усиливать глутаматергическую передачу, вызывающую гипертонию, которая также является компонентом метаболического синдрома [119].

NF-κB ингибирует транскрипцию гена ГнРГ у грызунов, опосредуя его возрастное снижение. Интересно, что интрацеребровентрикулярное или подкожное введение ГнРГ у мышей предотвращает возрастное снижение нейрогенеза в гипоталамусе и гиппокампе, восстанавливает мышечную силу, толщину кожи, костную массу и целостность коллагена хвостового сухожилия [114].

Старение и гипоталамическая аутофагия

Аутофагия – это строго контролируемый процесс, который регулирует круговорот клеточных компонентов и поддержание клеточного гомеостаза. Базальная активность аутофагии снижается с возрастом, а нарушение аутофагии вносит вклад в различные фенотипы старения и возрастные заболевания [120]. Кроме того, аутофагии способствовала повышенная экспрессия NPY в нейронах гипоталамуса. Эта NPY-зависимая стимуляция аутофагии опосредована рецепторами NPY Y1 и Y5 через действие путей PI3K, MAPK/ERK и PKA. Экспрессия NPY в гипоталамусе старых мышей снижается [121]. Заметное накопление p62 в нейронах POMC указывает на то, что нейроны POMC проявляют повышенную чувствительность к возрастному снижению аутофагии, что у старых мышей приводит к увеличению уровней препропротеина POMC в гипоталамусе и снижению α-MSH. Кроме того, у старых мышей обнаруживаются сходные дефекты ожирения и липолиза, как у мышей с нокаутом ATG7, о чем свидетельствуют увеличение массы тела, количества жира и снижение содержания свободных жирных кислот в сыворотке крови и глицерина по сравнению с молодыми мышами [5]. Таким образом, аутофагия нейронов POMC важна для поддержания энергетического баланса за счет генерации α-MSH, а снижение аутофагии в POMC способствует метаболическим осложнениям, часто наблюдаемым при старении. Возможно, модуляция гипоталамической аутофагии может дать ключ к разработке новых терапевтических вмешательств для замедления старения.

Гипоталамические стволовые клетки, микроРНК и старение

Сравнительно недавно было убедительно показано, что скорость старения в значительной степени контролируется стволовыми клетками гипоталамуса, частично за счет высвобождения экзосомальных микроРНК (миРНК) [122]. Стволовые клетки преимущественно располагались в области медиобазального гипоталамуса, вблизи стенки третьего желудочка, часть из которых представлена альфа-таницитами. Количество гипоталамических стволовых клеток и экзосомальных миРНК уменьшается даже до наступления старения и продолжает экспоненциально уменьшаться с возрастом, тогда как введение стволовых клеток или экзосом, содержащих миРНК, приводило к замедлению старения [122].

миРНК представляют собой небольшие одноцепочечные некодирующие РНК (длиной 18–25 нуклеотидов), которые являются важными посттранскрипционными регуляторами экспрессии генов. Подавляющее большинство миРНК ингибирует функцию гена на основе частичной комплементарности части одной или нескольких информационных РНК (мРНК), как правило, на сайте в 3'-нетранслируемой области целевой мРНК. Последовательности миРНК и ее сайт связывания не являются строго комплементарными, и это дает возможность каждой миРНК регулировать множество различных транскриптов. Таким образом, миРНК образуют широкие регуляторные сети и создают взаимодействие между различными клеточными путями [123–125]. миРНК участвуют в контроле различных биологических процессов в центральной нервной системе, в том числе в контроле функций гипоталамуса [124].

Профиль экспрессии миРНК в гипоталамусе изменяется после метаболических нарушений. Экспрессия let-7a, miR-9, miR-30e, miR-132, miR-145, miR-200a и miR-218 в гипоталамусе мышей-самцов была изменена после ограничения калорийности или диеты с высоким содержанием жиров [126]. У самцов мышей let-7a, miR-9 и miR-132 представляют собой специфичные для мозга миРНК с высоким уровнем гипоталамической экспрессии [126]. Let-7 участвует в регуляции метаболизма глюкозы и некоторых других метаболических программах [127]. Члены семейства Let-7 миРНК действуют как супрессоры многих генов, участвующих в сигнальном пути инсулина, включая IGF1R, INSR, IRS2, PIK3IP1, AKT2, TSC1 и RICTOR [128]. У мышей сверхэкспрессия lin28a (это РНК-связывающий белок, который избирательно подавляет экспрессию миРНК, включая let-7) в VMH вызывала значительное улучшение метаболизма глюкозы, тогда как подавление Lin28a было противоположным [129]. miR-132 и miR-218 связаны с воспалением в головном мозге [130, 131].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в гипоталамусе, в отличие от других отделов центральной нервной системы, не наблюдаются однозначно выраженные дегенеративные морфологические изменения. Тем не менее, со-

гласно элевационной теории старения, предложенной Дильманом, с возрастом наблюдается повышение порога чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим сигналам. У старых животных наблюдается ослабление регуляции деятельности гипоталамических нейронов по принципу отрицательной обратной связи. Процесс старения в гипоталамусе сопровождается нарушением баланса возбуждение/торможение за счет дисрегуляции ГАМК-ергической и глутаматергической системы, ГАМК-ергическая система оказывает протективное действие в отношении гипоталамического воспаления, ожирения и инсулинорезистентности, а избыточная активация глутаматергической системы при старении может вызывать разнообразные метаболические нарушения.

Старение сопровождается уменьшением частоты импульсации нейронов, нарушением обмена кальция, увеличением продукции оксида азота, нарушением процессов внутриклеточного сигналинга, в частности Sirt1, mTOR, NF-κB, AMPK, P53, PGC1α, FoxOs, а также выделением нейротрансмиттеров, например, ГнРГ, NO, NPY, α-MSH. Также важная роль в гипоталамическом старении принадлежит таницитам, что выражается в нарушении их связи с нейронами и нарушении функции барьеров. Стволовые клетки гипоталамуса, расположенные преимущественно в области срединной группы ядер, выделяют экзосомальные миРНК, которые также ответственны за антивозрастные эффекты этих клеток. При этом количество самих стволовых гипоталамических клеток и экзосомальных миРНК уменьшается по мере старения.

Несмотря на успехи последних лет, связанные с пониманием молекулярных механизмов ритмической активности, в частности работы ведущего пейсмекера – супрахиазматического ядра, а также организации нейронных гипоталамических сетей и взаимодействия нейронов и таницитов гипоталамуса, окончательного понимания механизмов гипоталамического старения к настоящему моменту еще нет. Применение сочетанных методов исследования, включая молекулярно-биологические и генетические поможет, приблизиться к решению этой проблемы.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана РНФ (грант 19-15-00039).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Написание текста рукописи – П.М. Маслюков, обзор публикаций по теме статьи – П.М. Маслюков, А.Д. Ноздрачев, редактирование – П.М. Маслюков, А.Д. Ноздрачев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Анисимов В.Н.* (2008) Молекулярные и физиологические механизмы старения: В 2-х т. СПб.: Наука [Anisimov V.N. (2008) Molecular and physiological mechanisms of aging: In 2 volumes. St. Petersburg: Nauka].
2. *Анисимов В.Н., Михальский А.И., Новосельцев В.Н., Романюха А.А., Яшин А.И.* (2010) Основные принципы построения многостадийной многоуровневой математической модели старения. Успехи геронтол. 23 (2): 163–167. [Anisimov V.N., Mikhal'skiy A.I., Novoseltsev V.N., Romanyukha A.A., Yashin A.I. (2010) Basic principles of building a multi-stage multilevel mathematical model of aging. Adv. Gerontol. 23 (2): 163–167.]
3. *Дильман В.М.* (1981) Большие биологические часы: (Введение в интегральную медицину). – Знание. [Dilman V.M. (1981) Large biological clock: (An introduction to integral medicine). – Znanie].
4. *Cai D., Khor S.* (2019) "Hypothalamic Microinflammation" Paradigm in Aging and Metabolic Diseases. Cell Metab 30 (1): 19–35.
5. *Kim K., Choe H.K.* (2019) Role of hypothalamus in aging and its underlying cellular mechanisms. Mech. Aging Dev 177: 74–79.
6. *Hill J.W., Elmquist J.K., Elias C.F.* (2008) Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. Am. J. Physiol. Endocrinol Metab 294 (5): E827–832. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00670.2007
7. *Dudas B.* (Ed.) (2013) Human Hypothalamus: Anatomy, Functions and Disorders. Nova Science Publishers, New York.
8. *Ковальзон В.М., Стрыгин К.Н.* (2013) Нейрохимические механизмы регуляции сна и бодрствования: роль блокаторов гистаминовых рецепторов в лечении инсомнии. Эффективная фармакотерапия 12: 8–14. [Kovalzon V.M., Strygin K.N. (2018) Neurochemical mechanisms of sleep and wakefulness regulation: the role of histamine receptor blockers in the treatment of insomnia. Effective Pharmacotherapy 12: 8–14.]
9. *Qin C., Li J., Tang K.* (2018) The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus: Development, Function, and Human Diseases. Endocrinology 159 (9): 3458–3472. https://doi.org/10.1210/en.2018-00453
10. *Brown C.H., Ludwig M., Tasker J.G., Stern J.E.* (2020) Somato-dendritic vasopressin and oxytocin secretion in endocrine and autonomic regulation. J Neuroendocrinol 32 (6): e12856. https://doi.org/10.1111/jne.12856
11. *Фролькис В.В.* (1991) Старение мозга. Л, Наука. [Frolkis V.V. (1991) Aging of the brain. L., Science].
12. *Hsu H.K., Peng M.-T.* (1978) Hypothalamic neuron number of the old female rats // Gerontology 24: 434–440.
13. *Sartin J.L., Lamperti A.A.* (1985) Neuron numbers in hypothalamic nuclei of young, middle-aged and aged male rats. Experientia 41: 109–111.
14. *Flood D.G., Coleman P.D.* (1993) Dendritic regression dissociated from neuronal death but associated with par-

tial deafferentation in aging rat supraoptic nucleus. Neurobiol Aging 14: 575–587.

15. *Madeira M.D., Ferreira-Silva L., Ruela C., Paula-Barbosa M.M.* (2001) Differential effects of the aging process on the morphology of the hypothalamic ventromedial nucleus of male and female rats. Neurosci Lett 314 (1–2): 73–76. https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02294-7
16. *Roberts D.E., Killiany R.J., Rosene D.L.* (2012) Neuron Numbers in the Hypothalamus of the Normal Aging Rhesus Monkey: Stability Across the Adult Lifespan and Between the Sexes. J Comp Neurol 520 (6): 1181–1197.
17. *Leal S., Andrade J.P., Paula-Barbosa M.M., Madeira M.D.* (1998) Arcuate nucleus of the hypothalamus: effects of age and sex. J Comp Neurol 401 (1): 65–88. https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19981109)401:1<65::aid-cne5>3.0.co;2-d
18. *Yang S.B., Tien A.C., Boddupalli G., Xu A.W., Jan Y.N., Jan L.Y.* (2012) Rapamycin ameliorates age-dependent obesity associated with increased mTOR signaling in hypothalamic POMC neurons. Neuron 75: 425–436.
19. *Hrabovszky E., Takács S., Göcz B., Skrapits K.* (2019) New Perspectives for Anatomical and Molecular Studies of Kisspeptin Neurons in the Aging Human Brain. Neuroendocrinology. 109 (3): 230–241. https://doi.org/10.1159/000496566
20. *Machado-Salas J., Scheibel M.E., Scheibel A.B.* (1977) Morphologic changes in the hypothalamus of the old mouse. Exp Neurol 57: 102–111.
21. *Rizzo V., Richman J., Puthanveettil S.V.* (2015) Dissecting mechanisms of brain aging by studying the intrinsic excitability of neurons. Front Aging Neurosci 6: 337. https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00337
22. *Kumar A., Foster T.C.* (2004) Enhanced long-term potentiation during aging is masked by processes involving intracellular calcium stores. J. Neurophysiol 91: 2437.
23. *Toescu E.C., Verkhratsky A.* (2000) Parameters of calcium homeostasis in normal neuronal ageing. J. Anat 197: 563.
24. *Need A.C., Irvine E.E., Giese K.P.* (2003) Learning and memory impairments in Kv beta 1.1-null mutants are rescued by environmental enrichment or ageing. Eur J. Neurosci 18. 1640–1644. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02889.x
25. *Farajnia S., Meijer J.H., Michel S.* (2015) Age-related changes in large-conductance calcium-activated potassium channels in mammalian circadian clock neurons. Neurobiol Aging 36 (6): 2176–2183. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.12.040
26. *Vishnyakova P.A., Moiseev K.Y., Spirichev A.A., Emanuilov A.I., Nozdrachev A.D., Masliukov P.M.* (2020) Expression of calbindin and calretinin in the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei during aging. Anat Rec (Hoboken). https://doi.org/10.1002/ar.24536
27. *Rozycka A., Liguz-Lecznar M.* (2017) The space where aging acts: focus on the GABAergic synapse. Aging Cell 16 (4): 634–643. https://doi.org/10.1111/acel.12605
28. *Yang S.B., Tien A.C., Boddupalli G., Xu A.W., Jan Y.N., Jan L.Y.* (2012) Rapamycin ameliorates age-dependent obesity associated with increased mTOR signaling in hypothalamic POMC neurons. Neuron 75: 425–436.
29. *Wang Y., Garro M., Dantzler H.A., Taylor J.A., Kline D.D., Kuehl-Kovarik M.C.* Age affects spontaneous activity and depolarizing afterpotentials in isolated gonadotropin-releasing hormone neurons. Endocrinology 149 (10): 4938–4947. 2008. https://doi.org/10.1210/en.2008-0308
30. *Wang Y., Kuehl-Kovarik M.C.* Estradiol directly attenuates sodium currents and depolarizing afterpotentials in isolated gonadotropin-releasing hormone neurons. Brain Res 2012 1436: 81–91. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.013
31. *Pfeffer M., Korf H.W., Wicht H.* (2018) Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms. Gen Comp Endocrinol 258: 215–221.
32. *Epelbaum J., Terrien J.* (2020) Mini-review: Aging of the neuroendocrine system: Insights from nonhuman primate models. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 100: 109854. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109854
33. *Takahashi J.S.* (2017) Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. Nat Rev Genet 18. 164–179.
34. *Hastings M.H., Maywood E.S., Brancaccio M.* (2018) Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. Nat Rev Neurosci 19 (8): 453–469. https://doi.org/10.1038/s41583-018-0026-z
35. *Noguchi T., Leise T.L., Kingsbury N.J., Diemer T., Wang L.L., Henson M.A., Welsh D.K.* (2017) Calcium Circadian Rhythmicity in the Suprachiasmatic Nucleus: Cell Autonomy and Network Modulation. eNeuro 4 (4): ENEURO.0160-17.2017. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0160-17.2017
36. *Patton A.P., Chesham J.E., Hastings M.H.* (2016) Combined pharmacological and genetic manipulations unlock unprecedented temporal elasticity and reveal phase- specific modulation of the molecular circadian clock of the mouse suprachiasmatic nucleus. J Neurosci 36: 9326–9341.
37. *Colwell C.S.* (2011) Linking neural activity and molecular oscillations in the SCN. Nat Rev Neurosci 12: 553–569.
38. *Meijer J.H., Michel S.* (2015) Neurophysiological analysis of the suprachiasmatic nucleus: a challenge at multiple levels. Methods Enzymol 552: 75–102.
39. *Houben T., Coomans C.P., Meijer J.H.* (2014) Regulation of circadian and acute activity levels by the murine suprachiasmatic nuclei. PLoS ONE 9: e110172.
40. *Kondratova A.A., Kondratov R.V.* (2012) The circadian clock and pathology of the ageing brain. Nat Rev Neurosci 13 (5): 325–335.
41. *Chen C.Y., Logan R.W., Ma T., Lewis D.A., Tseng G.C., Sibille E., McClung C.A.* (2016) Effects of aging on circadian patterns of gene expression in the human prefrontal cortex. Proc Natl Acad Sci USA 113 (1): 206–211.
42. *Rijo-Ferreira F., Takahashi J.S.* (2019) Genomics of circadian rhythms in health and disease. Genome Med 11 (1): 82. https://doi.org/10.1186/s13073-019-0704-0
43. *Buijink M.R., Olde Engberink A.H.O., Wit C.B., Almog A., Meijer J.H., Rohling J.H.T., Michel S.* Aging Affects the Capacity of Photoperiodic Adaptation Downstream

from the Central Molecular Clock. J Biol Rhythms 35 (2): 167–179. 2020. https://doi.org/10.1177/0748730419900867

44. *Yamaguchi A., Tatsumoto M., Matsumura R., Endo T., Hirata K., Tokuda I., Akashi M.* (2018) Normal peripheral circadian phase in the old-old with abnormal circadian behavior. Genes Cells 23 (10): 849–859.
45. *Zhdanova I.V., Masuda K., Quasarano-Kourkoulis C., Rosene D.L., Killiany R.J., Wang S* (2011) Aging of intrinsic circadian rhythms and sleep in a diurnal nonhuman primate, Macaca mulatta. J Biol Rhythms 26 (2): 149–159.
46. *Kawakami F., Okamura H., Tamada Y., Maebayashi Y., Fukui K., Ibata Y.* (1997) Loss of day-night differences in VIP mRNA levels in the suprachiasmatic nucleus of aged rats. Neurosci Lett 222 (2): 99–102.
47. *Palomba M., Nygård M., Florenzano F., Bertini G., Kristensson K., Bentivoglio M.* (2008) Decline of the presynaptic network, including GABAergic terminals, in the aging suprachiasmatic nucleus of the mouse. J Biol Rhythms 23 (3): 220–231.
48. *Aujard F., Cayetanot F., Terrien J., Van Someren E.J.* (2007) Attenuated effect of increased daylength on activity rhythm in the old mouse lemur, a non-human primate. Exp Gerontol 42 (11): 1079–1087.
49. *Cayetanot F., Bentivoglio M., Aujard F.* (2005) Arginine-vasopressin and vasointestinal polypeptide rhythms in the suprachiasmatic nucleus of the mouse lemur reveal agingrelated alterations of circadian pacemaker neurons in a non-human primate. Eur J Neurosci 22 (4): 902–910.
50. *Eghlidi D.H., Luna S.L., Brown D.I., Garyfallou V.T., Kohama S.G., Urbanski H.F.* (2018) Gene expression profiling of the SCN in young and old rhesus macaques. J Mol Endocrinol 61 (2): 57–67. https://doi.org/101530/JME-18-0062
51. *Шпаков А.О., Деркач К.В.* (2016) Меланокортиновая сигнальная система гипоталамуса и ее функциональное состояние в условиях сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 102 (1) 18–40. [Shpakov A.O., Derkach K.V. (2016) Melanocortin signaling system of the hypothalamus and its functional state in conditions of type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. IM Sechenov Ros Phyziol Zhurn 102 (1): 18–40. (In Russ).]
52. *Romanov R.A., Alpár A., Hökfelt T., Harkany T.* Unified Classification of Molecular, Network, and Endocrine Features of Hypothalamic Neurons. Annu Rev Neurosci 42: 1–26. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-070918-050414
53. *Ashpole N.M., Sanders J.E., Hodges E.L., Yan H., Sonntag W.E.* Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging brain. Exp Gerontol 68: 76–81. 2015.
54. *Bartke A.* (2003) Can growth hormone (GH) accelerate aging? Evidence from GH-transgenic mice. Neuroendocrinology 78: 210–216.
55. *Hirschberg P.R., Sarkar P., Teegala S.B., Routh V.H.* (2020) Ventromedial hypothalamus glucose-inhibited neurones: A role in glucose and energy homeostasis? J Neuroendocrinol 32 (1): e12773. https://doi.org/10.1111/jne.12773
56. *Kammel L.G., Correa S.M.* (2020) Selective sexual differentiation of neurone populations may contribute to sex-specific outputs of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. J. Neuroendocrinol 32 (1): e12801. https://doi.org/10.1111/jne.12801
57. *Mobbs C.V., Moreno C.L., Poplawski M.* (2013) Metabolic mystery: aging, obesity, diabetes, and the ventromedial hypothalamus. Trends Endocrinol Metab 24 (10): 488–494.
58. *Orozco-Solis R., Aguilar-Arnal L., Murakami M., Peruquetti R., Ramadori G., Coppari R., Sassone-Corsi P.* (2016) The Circadian Clock in the Ventromedial Hypothalamus Controls Cyclic Energy Expenditure. Cell Metab 23 (3): 467–478.
59. *Dhillon H., Zigman J.M., Ye C., Lee C.E., McGovern R.A., Tang V., Kenny C.D., Christiansen L.M., White R.D., Edelstein E.A., Coppari R., Balthasar N., Cowley M.A., Chua S. Jr., Elmquist J.K., Lowell B.B.* (2006) Leptin directly activates SF1 neurons in the VMH, and this action by leptin is required for normal body-weight homeostasis. Neuron 49 (2): 191–203.
60. *Sohn J.W., Oh Y., Kim K.W., Lee S., Williams K.W., Elmquist J.K.* (2016) Leptin and insulin engage specific PI3K subunits in hypothalamic SF1 neurons. Mol Metab J 5 (8): 669–679. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.06.004
61. *Parker K.L., Schimmer B.P.* (1997) Steroidogenic factor 1: a key determinant of endocrine development and function. Endocr Rev 18: 361–377.
62. *Kim K.W., Zhao L., Donato J.Jr., Kohno D., Xu Y., Elias C.F., Lee C., Parker K.L., Elmquist J.K.* (2011) Steroidogenic factor 1 directs programs regulating diet-induced thermogenesis and leptin action in the ventral medial hypothalamic nucleus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 108 (26): 10673–10678. https://doi.org/10.1073/pnas.1102364108
63. *Kinyua A.W., Yang D.J., Chang I., Kim K.W.* (2016) Steroidogenic Factor 1 in the Ventromedial Nucleus of the Hypothalamus Regulates Age-Dependent Obesity. PLoS One 11 (9): e0162352. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162352
64. *Majdic G., Young M., Gomez-Sanchez E., Anderson P., Szczepaniak L.S., Dobbins R.L., McGarry J.D., Parker K.L.* (2002) Knockout mice lacking steroidogenic factor 1 are a novel genetic model of hypothalamic obesity. Endocrinology 143: 607–614.
65. *Liu W., Liu M., Fan W., Nawata H., Yanase T.* The (2006) Gly146Ala variation in human SF-1 gene: its association with insulin resistance and type 2 diabetes in Chinese. Diabetes Res Clin Pract 73: 322–328.
66. *Моисеев К.Ю., Спиричев А.А., Вишнякова П.А., Ноздрачев А.Д., Маслюков П.М.* (2020) Изменения экспрессии стероидогенного фактора 1 (SF-1) в нейронах вентромедиального ядра гипоталамуса крысы при старении. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 106 (6): 720–727. [Moiseev K.Yu., Spirichev A.A., Vishnyakova P.A., Nozdrachev A.D., Maslyukov P.M. (2020) Changes in the expression of steroidogenic factor 1 (SF-1) in neurons of the ventromedial nucleus of the rat hypothalamus during aging. IM Sechenov Ros Fiziol J 106 (6): 720–727. (In Russ)].
67. *Prevot V., Dehouck B., Sharif A., Ciofi P., Giacobini P., Clasadonte J.* (2018) The Versatile Tanycyte: A Hypo-

thalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism. Endocr Rev 39 (3): 333–368. https://doi.org/10.1210/er.2017-00235

68. *Vong L., Ye C., Yang Z., Choi B., Chua S. Jr., Lowell B.B.* (2011) Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons. Neuron 71 (1): 142–154.
69. *Garfield A.S., Shah B.P., Burgess C.R., Li M.M., Li C., Steger J.S., Madara J.C., Campbell J.N., Kroeger D., Scammell T.E., Tannous B.A., Myers M.G.Jr., Andermann M.L., Krashes M.J., Lowell B.B.* (2016) Dynamic GABAergic afferent modulation of AgRP neurons. Nat Neurosci 19 (12): 1628–1635.
70. *Rezai-Zadeh K., Yu S., Jiang Y., Laque A., Schwartzenburg C., Morrison C.D., Derbenev A.V., Zsombok A., Münzberg H.* (2014) Leptin receptor neurons in the dorsomedial hypothalamus are key regulators of energy expenditure and body weight, but not food intake. Mol Metab 3 (7): 681–693.
71. *Mieda M., Williams S.C., Richardson J.A., Tanaka K., Yanagisawa M.* (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker. Proc Natl Acad Sci USA 103 (32): 12150–12155. https://doi.org/10.1073/pnas.0604189103
72. *Northeast R.C., Vyazovskiy V.V., Bechtold D.A.* (2020) Eat, sleep, repeat: the role of the circadian system in balancing sleep-wake control with metabolic need. Curr Opin Physiol. 15: 183–191. https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.02.003
73. *Chou T.C., Scammell T.E., Gooley J.J., Gaus S.E., Saper C.B., Lu J.* (2003) Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. J Neurosci 23 (33): 10691–10702.
74. *Saper C.B., Lu J., Chou T.C., Gooley J.* (2005) The hypothalamic integrator for circadian rhythms. Trends Neurosci. 28 (3): 152–157.
75. *Bechtold D.A., Loudon A.S.I.* (2013) Hypothalamic clocks and rhythms in feeding behaviour. Trends Neurosci 36: 74–82.
76. *Guilding C., Hughes A.T.L., Brown T.M., Namvar S., Piggins H.D.* (2009) A riot of rhythms: neuronal and glial circadian oscillators in the mediobasal hypothalamus. Mol Brain 2: 28.
77. *Chen K.-S., Xu M., Zhang Z., Chang W.-C., Gaj T., Schaffer D.V., Dan Y.* (2018) A hypothalamic switch for REM and non-REM sleep. Neuron 97: 1168–1176. e4.
78. *Aston-Jones G., Chen S., Zhu Y., Oshinsky M.L.* (2001) A neural circuit for circadian regulation of arousal. Nat Neurosci 4: 732–738.
79. *Acosta-Galvan G., Yi C.-X., van der Vliet J., Jhamandas J.H., Panula P., Angeles-Castellanos M., del Carmen Basualdo M., Escobar C., Buijs R.M.* (2011) Interaction between hypothalamic dorsomedial nucleus and the suprachiasmatic nucleus determines intensity of food anticipatory behavior. Proc Natl Acad Sci USA 108: 5813–5818.
80. *Gooley J.J., Schomer A., Saper C.B.* (2006) The dorsomedial hypothalamic nucleus is critical for the expression of food-entrainable circadian rhythms. Nat Neurosci 9 (3): 398–407.
81. *Joseph-Bravo P., Jaimes-Hoy L., Charli J.L.* (2016) Advances in TRH signaling. Rev Endocr Metab Disord 17 (4): 545–558. https://doi.org/10.1007/s11154-016-9375-y
82. *Daimon C.M., Chirdon P., Maudsley S., Martin B.* The role of Thyrotropin Releasing Hormone in aging and neurodegenerative diseases. Am J Alzheimers Dis (Columbia) 1 (1): 2013. https://doi.org/10.7726/ajad.2013.1003
83. *Roelfsema F., Boelen A., Kalsbeek A., Fliers E.* (2017) Regulatory aspects of the human hypothalamus-pituitary-thyroid axis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 31 (5): 487–503. https://doi.org/10.1016/j.beem.2017.09.004
84. *Kunimura Y., Iwata K., Ishigami A., Ozawa H.* (2017) Age-related alterations in hypothalamic kisspeptin, neurokinin B, and dynorphin neurons and in pulsatile LH release in female and male rats. Neurobiol Aging 50: 30–38.
85. *Tsutsumi R., Webster N.J.* (2009) GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction. Endocr J 56 (6): 729–737. https://doi.org/10.1507/endocrj.k09e-185
86. *Yin W., Gore A.C.* (2006) Neuroendocrine control of reproductive aging: roles of GnRH neurons. Reproduction. 131 (3): 403–414. https://doi.org/10.1530/rep.1.00617
87. *Rance N.E.* (2009) Menopause and the human hypothalamus: evidence for the role of kisspeptin/neurokinin B neurons in the regulation of estrogen negative feedback. Peptides 30 (1): 111–122. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.05.016
88. *Satoh A., Imai S.I., Guarente L.* (2017) The brain, sirtuins, and ageing. Nat Rev Neurosci 18 (6): 362–374. https://doi.org/10.1038/nrn.2017.42
89. *Hong S., Zhao B., Lombard D.B., Fingar D.C., Inoki K.* (2014) Cross-talk between sirtuin and mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling in the regulation of S6 kinase 1 (S6K1) phosphorylation. J Biol Chem 289 (19): 13132–13141. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.520734
90. *Igarashi M., Guarente L.* mTORC1 and SIRT1 Cooperate to Foster Expansion of Gut Adult Stem Cells during Calorie Restriction. Cell. 166 (2): 436–450. 2016. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.044
91. *Ramadori G., Fujikawa T., Fukuda M., Anderson J., Morgan D.A., Mostoslavsky R., Stuart R.C., Perello M., Vianna C.R., Nillni E.A., Rahmouni K., Coppari R.* (2010) SIRT1 deacetylase in POMC neurons is required for homeostatic defenses against diet-induced obesity. Cell Metab. 12 (1): 78–87. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.05.010
92. *Al-Massadi O., Quiñones M., Clasadonte J., Hernandez-Bautista R., Romero-Picó A., Folgueira C., Morgan D.A., Kalló I., Heras V., Senra A., Funderburk S.C., Krashes M.J., Souto Y., Fidalgo M., Luquet S., Chee M.J., Imbernon M., Beiroa D., García-Caballero L., Gallego R., Lam B.Y.H., Yeo G., Lopez M., Liposits Z., Rahmouni K., Prevot V., Dieguez C., Nogueiras R.* (2019) MCH Regulates SIRT1/FoxO1 and Reduces POMC Neuronal Activity to Induce Hyperphagia, Adiposity, and Glucose Intolerance. Diabetes 68 (12): 2210–2222. https://doi.org/10.2337/db19-0029
93. *Spirichev A.A., Moiseev K.Y., Masliukov P.M.* (2020) Sirtuin 1 Expression in the Rat Ventromedial and Dorsomedial Hypothalamic Nuclei during Ageing. Bull Exp

Biol Med 169 (5): 698–700.
https://doi.org/10.1007/s10517-020-04958-8

94. *Satoh A., Imai S.* (2014) Systemic regulation of mammalian ageing and longevity by brain sirtuins. Nat Commun 5: 4211.
https://doi.org/10.1038/ncomms5211
95. *Chang H.C., Guarente L.* (2013) SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging. Cell 153 (7): 1448–1460.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.027
96. *Satoh A., Brace C.S., Rensing N., Cliften P., Wozniak D.F., Herzog E.D., Yamada K.A., Imai S.* (2013) Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. Cell Metab 18 (3): 416–430.
97. *Liu G.Y., Sabatini D.M.* (2020) mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. Nat Rev Mol Cell Biol 21 (4): 183–203.
https://doi.org/10.1038/s41580-019-0199-y
98. *Saxton R.A., Sabatini D.M.* (2017) mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. Cell 168 (6): 960–976.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004
99. *Martínez de Morentin P.B., Martinez-Sanchez N., Roa J., Ferno J., Nogueiras R., Tena-Sempere M., Dieguez C., Lopez M.* (2014) Hypothalamic mTOR: the rookie energy sensor. Curr Mol Med 14 (1): 3–21.
https://doi.org/10.2174/1566524013666131118103706
100. *Kim J.G., Horvath T.L.* (2012) mTOR signaling fades POMC neurons during aging. Neuron 75: 356–357.
101. *Mori H., Inoki K., Münzberg H., Opland D., Faouzi M., Villanueva E.C., Ikenoue T., Kwiatkowski D., MacDougald O.A., Myers M.G. Jr., Guan K.L.* (2009) Critical role for hypothalamic mTOR activity in energy balance. Cell Metab 9 (4): 362–374.
102. *Blouet C., Ono H., Schwartz G.J.* (2008) Mediobasal hypothalamic p70 S6 kinase 1 modulates the control of energy homeostasis. Cell Metab 8: 459–467.
103. *Chellappa K., Brinkman J.A., Mukherjee S., Morrison M., Alotaibi M.I., Carbajal K.A., Alhadeff A.L., Perron I.J., Yao R., Purdy C.S., DeFelice D.M., Wakai M.H., Tomasiewicz J., Lin A., Meyer E., Peng Y., Arriola Apelo S.I., Puglielli L., Betley J.N., Paschos G.K., Baur J.A., Lamming D.W.* (2019) Hypothalamic mTORC2 is essential for metabolic health and longevity. Aging Cell. 18 (5): e13014.
https://doi.org/10.1111/acel.13014
104. *Martins R., Lithgow G.J., Link W.* (2016) Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity. Aging Cell 15 (2): 196–207.
https://doi.org/10.1111/acel.12427
105. *Hong S.H., Lee K.S., Kwak S.J., Kim A.K., Bai H., Jung M.S., Kwon O.Y., Song W.J., Tatar M., Yu K.* (2012) Minibrain/Dyrk1a regulates food intake through the Sir2-FOXO-sNPF/NPY pathway in Drosophila and mammals. PLoS Genet 8 (8): e1002857.
https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002857
106. *Shi C., Shi R., Guo H.* (2020) Tumor necrosis factor α reduces gonadotropin-releasing hormone release through increase of forkhead box protein O1 activity. Neuroreport 31 (6): 473–477.
https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001424
107. *Bahadoran Z., Carlström M., Mirmiran P., Ghasemi A.* Nitric oxide: to be or not to be an endocrine hormone? Acta Physiol. (Oxf). e13443. 2020.
https://doi.org/10.1111/apha.13443
108. *Chachlaki K., Garthwaite J., Prevot V.* (2017) The gentle art of saying NO: how nitric oxide gets things done in the hypothalamus. Nat Rev Endocrinol 9: 521–535.
109. *Moiseev K.Y., Vishnyakova P.A., Porseva V.V., Masliukov A.P., Spirichev A.A., Emanuilov A.I., Masliukov P.M.* (2020) Changes of nNOS expression in the tuberal hypothalamic nuclei during ageing. Nitric Oxide 100–101: 1–6.
https://doi.org/10.1016/j.niox.2020.04.002
110. *Dawson T.M., Dawson V.L.* (2018) Nitric oxide signaling in neurodegeneration and cell death. Adv Pharmacol 82: 57–83.
111. *Sen N., Hara M.R., Kornberg M.D., Cascio M.B., Bae B.I., Shahani N., Thomas B., Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H., Sawa A* (2008) Nitric oxide-induced nuclear GAPDH activates p300/CBP and mediates apoptosis. Nature Cell Biology 10 (7): 866–873.
112. *Carletti F., Gambino G., Rizzo V., Ferraro G., Sardo P.* (2015) Cannabinoid and nitric oxide signaling interplay in the modulation of hippocampal hyperexcitability: Study on electrophysiological and behavioral models of temporal lobe epilepsy in the rat. Neuroscience 303: 149–159.
113. *Belgardt B.F., Mauer J., Wunderlich F.T., Ernst M.B., Pal M., Spohn G., Brönneke H.S., Brodesser S., Hampel B., Schauss A.C., Brüning J.C.* (2010) Hypothalamic and pituitary c-Jun N-terminal kinase 1 signaling coordinately regulates glucose metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 107 (13): 6028–6033.
https://doi.org/10.1073/pnas.1001796107
114. *Zhang G., Li J., Purkayastha S., Tang Y., Zhang H., Yin Y., Li B., Liu G., Cai D.* (2013) Hypothalamic programming of systemic ageing involving IKK-β, NF-κB and GnRH. Nature 497 (7448): 211–216.
https://doi.org/10.1038/nature12143
115. *Zhang X., Zhang G., Zhang H., Karin M., Bai H., Cai D.* (2008) Hypothalamic IKKbeta/NF-kappaB and ER stress link overnutrition to energy imbalance and obesity. Cell 135 (1): 61–73.
https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.07.043
116. *Zhang Y., Reichel J.M., Han C., Zuniga-Hertz J.P., Cai D.* (2017) Astrocytic Process Plasticity and IKKβ/NF-κB in Central Control of Blood Glucose, Blood Pressure, and Body Weight. Cell Metab 25 (5): 1091–1102.e4.
https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.002
117. *McMurphy T., Huang W., Liu X., Siu J.J., Queen N.J., Xiao R., Cao L.* (2019) Hypothalamic gene transfer of BDNF promotes healthy aging in mice. Aging Cell 18 (2): e12846.
https://doi.org/10.1111/acel.12846
118. *Ito Y., Banno R., Shibata M., Adachi K., Hagimoto S., Hagiwara D., Ozawa Y., Goto M., Suga H., Sugimura Y., Bettler B., Oiso Y., Arima H.* (2013) GABA type B receptor signaling in proopiomelanocortin neurons protects against obesity, insulin resistance, and hypothalamic inflammation in male mice on a high-fat diet. J Neurosci 33 (43): 17166–71713.
https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0897-13.2013

119. *Yu B., Cai D.* (2017) Neural Programmatic Role of Leptin, TNFα, Melanocortin, and Glutamate in Blood Pressure Regulation vs Obesity-Related Hypertension in Male C57BL/6 Mice. Endocrinology 158 (6): 1766–1775. https://doi.org/10.1210/en.2016-1872

120. *Kaushik S., Arias E., Kwon H., Lopez N.M., Athonvarangkul D., Sahu S., Schwartz G.J., Pessin J.E., Singh R.* (2012) Loss of autophagy in hypothalamic POMC neurons impairs lipolysis. EMBO Rep 13 (3): 258–265. https://doi.org/10.1038/embor.2011.260

121. *Aveleira C.A., Botelho M., Carmo-Silva S., Pascoal J.F., Ferreira-Marques M., Nóbrega C., Cortes L., Valero J., Sousa-Ferreira L., Álvaro A.R., Santana M., Kügler S., Pereira de Almeida L., Cavadas C.* (2015) Neuropeptide Y stimulates autophagy in hypothalamic neurons. Proc Natl Acad Sci USA 112 (13): E1642–1651. https://doi.org/10.1073/pnas.1416609112

122. *Zhang Y., Kim M.S., Jia B., Yan J., Zuniga-Hertz J.P., Han C., Cai D.* (2017) Hypothalamic stem cells control aging speed partly through exosomal miRNAs. Nature 548 (7665): 52–57. https://doi.org/10.1038/nature23282

123. *Ying S.Y., Chang D.C., Miller J.D., Lin S.L.* (2006) The microRNA: overview of the RNA gene that modulates gene functions. Methods Mol Biol 342: 1–18. https://doi.org/10.1385/1-59745-123-1:1

124. *Taouis M.* (2016) MicroRNAs in the hypothalamus. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 30 (5): 641–651. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.09.019

125. *Vinnikov I.A., Domanskyi A.* (2017) Can we treat neurodegenerative diseases by preventing an age-related decline in microRNA expression? Neural Regen Res 12 (10): 1602–1604. https://doi.org/10.4103/1673-5374.217328

126. *Sangiao-Alvarellos S., Pena-Bello L., Manfredi-Lozano M., Tena-Sempere M., Cordido F.* (2014) Perturbation of hypothalamic microRNA expression patterns in male rats after metabolic distress: impact of obesity and conditions of negative energy balance. Endocrinology 155 (5): 1838–1850. https://doi.org/10.1210/en.2013-1770

127. *Jiang S.* (2019) A Regulator of Metabolic Reprogramming: MicroRNA Let-7. Transl Oncol 12 (7): 1005–1013. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.04.013

128. *Dubinsky A.N., Dastidar S.G., Hsu C.L., Zahra R., Djakovic S.N., Duarte S., Esau C.C., Spencer B., Ashe T.D., Fischer K.M., MacKenna D.A., Sopher B.L., Masliah E., Gaasterland T., Chau B.N., Pereira de Almeida L., Morrison B.E., La Spada A.R.* (2014) Let-7 coordinately suppresses components of the amino acid sensing pathway to repress mTORC1 and induce autophagy. Cell Metab 20: 626–638. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.09.001

129. *Kim C.K., Asimes A., Zhang M., Son B.T., Kirk J.A., Pak T.R.* (2020) Differential Stability of miR-9–5p and miR-9–3p in the Brain Is Determined by Their Unique Cis- and Trans-Acting Elements eNeuro 7 (3): ENEURO.0094-20.2020. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0094-20.2020

130. *Ji Y.F., Wang D., Liu Y.R., Ma X.R., Lu H., Zhang B.A.* (2018) MicroRNA-132 attenuates LPS-induced inflammatory injury by targeting TRAF6 in neuronal cell line HT-22. J Cell Biochem 119 (7): 5528–5537. https://doi.org/10.1002/jcb.26720

131. *Li M., Guo Q., Cai H., Wang H., Ma Z., Zhang X.* (2020) miR-218 regulates diabetic nephropathy via targeting IKK-β and modulating NK-κB-mediated inflammation. J Cell Physiol 235 (4): 3362–3371. https://doi.org/10.1002/jcp.29224

HYPOTHALAMIC MECHANISMS OF THE REGULATION OF AGING

P. M. Masliukov[a,#] and A. D. Nozdrachev[b,c]

[a] *Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russia*

[b] *Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

[c] *Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

[#] *e-mail: mpm@ysmu.ru*

The hypothalamus is the most important integrator of functions of the autonomous, endocrine, somatic nervous systems; it is involved in the regulation of rhythmic processes and systemic aging. Putative hypothalamic nuclei responsible for the implementation of the developmental program of aging include the suprachiasmatic nucleus and the median group of nuclei, including the arcuate, ventromedial, and dorsomedial nuclei. Hypothalamic aging is accompanied by an excitation-inhibition imbalance due to dysregulation of the GABA-ergic system, decreased frequency of neuronal firing, impaired calcium metabolism, elevated nitric oxide production, decreased autophagy, and disturbed intracellular signaling, in particular Sirt1, mTOR, NF-κB, AMPK, P53, and FoxO. Also, an important role in hypothalamic aging belongs to specialized ependymal cells, tanycytes, as manifested in the disruption of tanycyte-neuron relationships and impaired barrier function of these cells. Hypothalamic neural stem cells, located mainly in the region of the middle hypothalamic nuclei, secrete exosomal microRNA also responsible for anti-aging effects of stem cells. The pool of hypothalamic neural stem cells, as well as microRNA production therein, decline with age.

Keywords: hypothalamus, aging, neuroinflammation, microRNA

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 240–249

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ПРОДРОМАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭПИЛЕПСИИ У КРЫС С МАЯТНИКООБРАЗНЫМИ ДВИЖЕНИЯМИ

© 2021 г. Т. А. Алехина[1], В. С. Плеканчук[1,2,*], Л. В. Осадчук[1]

[1] Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

[2] Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

**e-mail: lada9604@mail.ru*

Поступила в редакцию 10.12.2020 г.
После доработки 14.01.2021 г.
Принята к публикации 22.02.2021 г.

На селекционной линии крыс с маятникообразными движениями (МД) разрабатывается модель фокальных приступов с автоматизмами. 90% животных линии МД в дефинитивном возрасте дают припадки на аудиогенный раздражитель. В отличие от линий Крушинского–Молодкиной и GEPR-9 ("genetically epilepsy-prone rats"), в популяции которых наблюдаются генерализованные судороги, особи с МД демонстрируют клонический каскад приступов – стереотипные прыжки, достигающие в высоту 0.5 м и со скоростью 1 прыжок в секунду. Линия МД является новой моделью эпилептиформных реакций и практически не исследовалась в раннем онтогенезе. Для обнаружения продромальных признаков эпилепсии поставлена цель исследовать поведенческие и гормонально-метаболические параметры на модели МД в неонатальном периоде развития. Контролем служили крысы линии Вистар, которая являлась исходной популяцией при селекции. В результате проведенного исследования к продромальным характеристикам линии МД мы отнесли такие параметры, как замедление роста локомоторной активности и увеличения массы тела и семенников, затормаживание подъема уровня холестерина в плазме крови на 10-й и 14-й день развития. Наряду с этим показан сдвиг пика циркулярных движений у крыс МД. Выявлено повышенное проявление возбудимых реакций – вокализаций и пароксизмов. Установлена фазное изменение содержания триглицеридов в крови. Данные корреляционного анализа указывают, что у самцов линии Вистар (контрольная линия) уровень тестостерона в плазме крови достоверно отрицательно взаимосвязан с массой тела и семенников, и положительно – с уровнем три-глицеридов в крови. В то же время такие же корреляции у крыс МД были недостоверными. Эти факты говорят о дестабилизации развития морфофизиологических признаков у крыс линии МД по сравнению с контрольной линией крыс Вистар. Учитывая выявленные продромальные признаки в ходе усиления маятникообразного гиперкинеза (замедление темпов развития, сдвиг фаз циркулярного движения, содержания триглицеридов и изменение взаимосвязей коррелированных фенотипических признаков), линию крыс МД можно рассматривать как модель для дальнейшего изучения биологической основы эпилептиформной патологии.

Ключевые слова: селекционированная линия крыс МД, маятникообразный гиперкинез, эпилепсия, неонатальный период, тестостерон, холестерин, триглицериды

DOI: 10.31857/S0044452921030025

ВВЕДЕНИЕ

В исследованиях на популяциях человека выявлены признаки "повышенной готовности" нервной системы к эпилептическим расстройствам у детей младенческого возраста. К таким признакам относят моторные реакции с клоническими, тоническими и миоклоническими приступами, диспластические процессы, замедленное развитие двигательных реакций, задержка набора в весе тела и органов [1–3]; в качестве коморбидных проявлений рассматривается дисбаланс метаболического обмена [4–6]. Все эти отклонения указывают на ранние сдвиги в нейрогормональных и метаболических процессах в организме и могут рассматриваться как маркеры генетически обусловленных эпилептических расстройств в раннем развитии.

Фокальные моторные приступы с типичными автоматизмами являются одной из форм эпилепсии. Для изучения механизмов данного синдрома и взаимосвязи с функционированием физиологических систем используются модели лабораторных животных. В.Г. Колпаковым были созданы две модели кататонического типа реагирования – линия ГК (Генетическая Кататония) [7] и линия с маятникообразными движениями (МД) [7–10]. По общей фенотипической картине две эти линии отличаются повышенным стрессорным ответом на внешние воздействия и ассоциированной с этим признаком по-

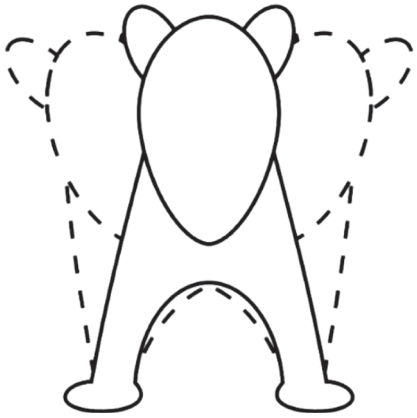


Рис. 1. Схема маятникообразных движений у крыс.

ниженной рождаемостью потомства. Известное антагонистическое взаимодействие между надпочечниками и гонадами в ходе селекции приводит к тому, что стресс подавляет половую активность [11]. Механизмы такого явления в раннем онтогенезе на линии МД не изучены.

Для животных с МД характерны ритмичные раскачивания головы и передней части тела при отсутствии локомоций (рис. 1).

Маятникообразные движения наблюдаются не только у мышей и крыс, но и у кроликов-альбиносов и скорпионовых хомячков [цит. по 10, 12]. У крыс, селекционированных на увеличение амплитуды маятникообразных движений (МД), после 40 поколения отбора стали развиваться аудиогенные припадки в 80–90% случаев в отличие от исходной (контрольной) популяции Вистар, в которой эпилептические приступы наблюдаются только у 25–30% животных [13]. На сегодняшний день по нашим данным отмечено 10% припадков у неселекционированных крыс Вистар и WAG (Wistar Albino Glaxo) с МД при действии аудиогенного раздражителя. Факты по изменению предрасположенности к аудиогенным припадкам в разных поколениях селекции указывают на важную роль наследственной изменчивости при отборе по поведению [11]. В линии МД произошел сдвиг от кататонического типа реагирования до эпилептиформного. Соответственно произошли и отклонения в уровнях нейротрансмиттеров в мозге [13, 14]. В линии МД эти отклонения оказались сходными с таковыми у крыс Крушинского–Молодкиной и GEPR-9 (“genetically epilepsy-prone rats”) [13]. В настоящее время в пользу того, что в качестве модели фокальных моторных приступов с типичными автоматизмами можно рассматривать линейных крыс с МД, говорят следующие факты. У животных этой линии наблюдаются 50% абортивных аудиогенных припадков [13, 15], снижение уровня таурина в гиппокампе [14], найдена положительная корреляция между интенсивностью припадков и длительностью постиктальной каталепсии в отличие от контрольной линии Вистар [15]. Показано также, что в ходе отбора по усилению МД снизился вес тела у половозрелых особей, а также уровень фертильности и доля пропустовавших самок [15].

Перинатальный период онтогенеза является критическим для формирования нервной системы и развития постурально-моторных реакций. В классических работах уделяется особое внимание становлению двигательного поведения как пространственно-временного процесса [16–18]. В двигательном поведении исследователи выделяют составляющие его компоненты, анализируют их появление, частоту и выраженность. К ним относят движение головы, повороты туловища, локомоции, стойки, груминг. Основываясь на подробном анализе двигательного поведения, были выделены 4 критические точки в неонатальном развитии. Это 1-й день – движения головы и ползание, 7-й день – созревание кортикоспинального тракта, 10-й день – становление на 4 лапах и хождение, 14-й день – открытие ушей и глаз и формирование кругозора [16–18].

В неонатальный период происходит развитие репродуктивной системы организма. Выяснение физиологических механизмов преобразования репродуктивной функции в результате поведенческой селекции является ключевой проблемой, поскольку от успешного воспроизведения здорового потомства зависят существование вида и его эволюция. Сравнительный анализ морфологических и гормональных признаков развития семенников в раннем развитии позволяет установить отклонения у крыс линии МД по сравнению с контрольной линией Вистар, что может выявить предикторные особенности снижения фертильности у крыс экспериментальной линии. Тестостерон, который синтезируется в клетках Лейдига семенников, влияет на развитие и накопление костно-мышечной массы [19], регуляцию сперматогенеза и полового поведения [20] и взаимодействует с такими липидами, как холестерин и триглицериды [21, 22]. Липиды играют полифункциональную роль в онтогенезе: являются энергетическим резервом для развивающегося организма, служат предшественниками биологически активных веществ, стабилизируют работу мембран клеток, являются предшественниками в синтезе кортикостероидных и половых гормонов.

Селекционируемая линия крыс МД с частотой 95% маятникообразного гиперкинеза является новой линией. Животные этой линии в раннем онтогенезе практически не исследовались. Целью настоящей работы стали изучение развития моторных реакций, характеристика морфологической и гормональной функции гонадной системы и липидного обмена в критических точках раннего онтогенеза у крыс линии с МД. Дополнительно была поставлена задача – провести сравнительный анализ полученных данных с таковыми у крыс линии ГК,

представляющих модель кататонического типа реагирования. Такое сравнение позволит определить механизмы возникновения эпилептиформных реакций у крыс МД и выявить предикторные свойства эпилепсии у крыс-маятников в дефинитивном возрасте.

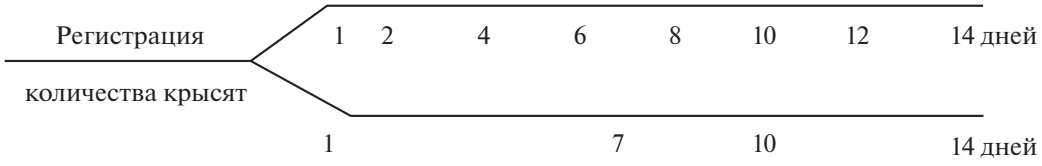
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Экспериментальные животные: крысы линий МД ($n = 116$) и Вистар ($n = 126$), всего $n = 242$. Животные содержались в стандартных условиях вивария ИЦиГ в свободном доступе к воде и корму. Все экспериментальные процедуры выполнены с соблюдением всех норм, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/EEC) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных целей.

Последовательность опытов:

I часть: тесты на активность моторных подсистем и щипковую каталепсию.

I часть: тесты на активность моторных подсистем и щипковую каталепсию



II часть: взятие крови, взвешивание тела и семенников, биохимический анализ

II часть: взятие крови, взвешивание тела и семенников, биохимический анализ.

Для получения потомства нужного возраста проводили спаривание самцов и самок в линиях МД и Вистар. На последней неделе беременности самок отсаживали в индивидуальные клетки и день родов обозначали как первый день жизни крысят. Регистрировали количество детенышей в каждом помете при рождении. Непосредственно перед декапитацией самцов взвешивали, после декапитации собирали периферическую кровь, выделяли семенники и взвешивали.

Тест на активность моторных подсистем [16–18]

Тестирование проводилось на открытой площадке размером 20 × 30 см с подогревом до +30–35°C; температура поддерживалась на уровне температуры гнезда с крысятами. Поведение снималось на видео камеру Panasonic в течение 1 мин. Крысенка брали за кожу дорсальной части шеи, помещали на середину площадки хвостом к экспериментатору. Регистрировали следующие параметры: число двигательных реакций головы, циркулярных движений, "плавательных" движений, локомоций, время иммобильности (сек). Каждый детеныш тестировался не более 3 раз из 14 дней.

Тест на щипковую каталепсию [23]

Щипковая каталепсия тестировалась у 2-недельных крысят путем приподнимания за кожу дорсальной поверхности шеи. Регистрировались следующие параметры: время иммобильности (сек), число пароксизмов, время вокализации и время с закрытыми глазами (сек). Поведение снималось на видео камеру Panasonic в течение 2 мин.

Определение тестостерона в сыворотке крови и гомогенатах семенников. Использовали методику, описанную ранее [24, 25]. Коротко: периферическую кровь центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин и при +4°C, сыворотку хранили при –40°C, оба семенника гомогенизировали в 500 мкл фосфатного буфера, центрифугировали и супернатант хранили при –40°C. Тестостерон в сыворотке крови и гомогенатах семенников определяли иммуноферментным методом с использованием наборов "Стероид ИФА-тестостерон-01" (Алкор Био, Санкт-Петербург) по прилагаемой инструкции. Диапазон определения концентраций 0.2–50 нмоль/л. Чувствительность 0.2 нмоль/л. Концентрацию тестостерона в сыворотке выражали в нмоль/л.

Определение показателей липидного обмена. Использовали методику, описанную ранее [25]. Уровень общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ) определяли ферментативным колориметрическим методом на планшетной модификации стандартными наборами Вектор Бест (Новосибирск) по прилагаемой инструкции. Диапазон определения концентраций 0.2–50 ммоль/л. Чувствительность 0.2 ммоль/л.

Статистическая обработка данных. Полученные данные обрабатывались с использованием пакета программ "STATISTICA 10.0". Данные в таблицах и рисунках представлены как средняя арифметическая и ошибка среднего (mean ± SEM). При сравнении линий МД и Вистар применяли 2-факторный анализ ANOVA (фактор генотипа и фактор возраста). По отдельным точкам в онтогенезе (1-, 7-, 10-, 14-й день) сравнивали по *post hoc* LSD-критерию. В качестве статистически достоверного уровня значимости считался $p < 0.05$. Использовали программу Correlation Matrices для подсчета коэффициентов корреляции (R) между показателями

Таблица 1. Двигательные реакции у крысят Вистар и МД в первый день жизни

Параметры	Вистар (24)	МД (18)
Движения головы (*n*)	2.92 ± 0.45	1.00 ± 0.28**
Циркулярные движения (*n*)	1.56 ± 0.24	1.21 ± 0.20
“Плавательные” движения (*n*)	0.88 ± 0.22	0.16 ± 0.12**
Время иммобильности (сек)	41.8 ± 5.3	52.4 ± 2.0$^{\#}$
Общая активность (*n*)	5.00 ± 0.64	1.72 ± 0.29***

** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – различия, $^{\#}$ $p < 0.09$ – тенденция отличий показателей между линиями Вистар и МД по LSD-критерию, *n* – число актов.

Таблица 2. Тест на щипковую каталепсию в 2-недельном возрасте у крыс Вистар и МД

Показатели	Вистар (35)	МД (33)
Время иммобильности (сек)	63.6 ± 2.4	72.8 ± 3.2*
Число пароксизмов (*n*)	0.5 ± 0.1	1.9 ± 0.3**
Время вокализации (сек)	2.0 ± 0.5	7.8 ± 1.3***
Время с закрытыми глазами (сек)	29.7 ± 2.7	47.9 ± 5.3**

*$p < 0.05$, **$p < 0.01$, *** $p < 0.001$ – различия достоверны у крыс Вистар и МД по LSD-критерию, *n* – количество тестов.

массы тела, массы семенников, уровней тестостерона, холестерина и триглицеридов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зарегистрирована сниженная рождаемость в линии МД (30 пометов) по сравнению с линией Вистар (20 пометов): 7.0 ± 0.5 и 10.6 ± 0.9 крысят в помете ($p < 0.001$) соответственно.

Поведенческие тесты. Крысы Вистар и МД различаются по тесту на активность моторных подсистем. Основные параметры этого теста – движения головы, циркулярные, “плавательные” движения, локомоции и застывание (табл. 1; рис. 2, рис. 3). “Плавательными” движениями считали такие движения, когда крысята, не отрывая вентральной поверхности своего тела от пола площадки, “загребали” лапками, что и напоминало “плавательные” движения. Особое внимание было уделено 1-му дню жизни особей. Крысята рождаются с ограниченными возможностями принятия сенсорной информации (уши и глаза у них закрыты), и поэтому влияние фактора генотипа прослеживается наиболее четко из-за отсутствия сформированных зрительных и слуховых рецепторов при восприятии внешних стимулов. Результаты тестирования показаны в табл. 1.

На число актов циркулярного движения в линиях Вистар и МД оказал фактор генотипа ($F_{(5,256)} = 4.62$; $p < 0.001$). Крысята отличались в течение 2 нед тестирования по динамике циркулярного движения: пик у Вистар пришелся на 8-й день, пик у МД – на 10-й день.

На параметр локомоторной активности повлиял фактор генотипа ($F_{(5, 237)} = 25.45$; $p < 0.001$ у двух линий. Это влияние выразилось в отставании темпов роста локомоций у крысят группы МД по сравнению с крысятами группы Вистар на 12-й и 14-й день.

Тест на щипковую каталепсию в 2- недельном возрасте [23].

Данные по тесту щипковая каталепсия различаются в группах Вистар и МД (табл. 1). Показатели делятся на “позитивные” и “негативные” признаки. К “позитивным” признакам, отражающим возбудимость нервной системы, относятся повышенное число пароксизмов и время вокализации. Крысы МД превосходят крыс Вистар по этим параметрам. Показатель “время с закрытыми глазами” отражает трансподобное (полусонное) состояние, характер-

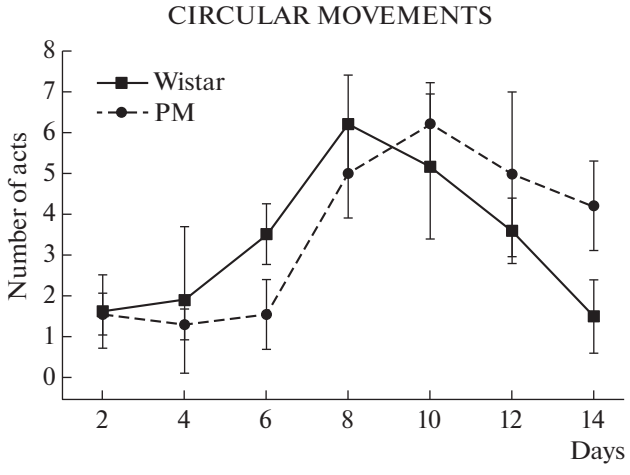


Рис. 2. Циркулярные движения у крыс Вистар и МД. Различия достоверны по влиянию фактора генотипа: $F_{(5, 256)} = 4.62$; $p < 0.001$.

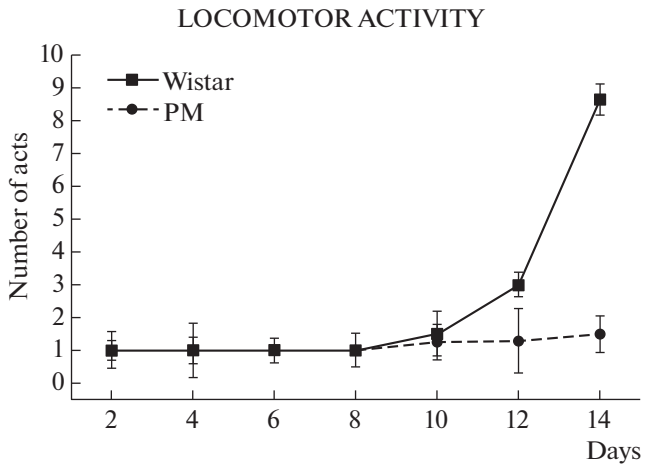


Рис. 3. Локомоторные акты у крыс Вистар и МД. Различия достоверны по влиянию фактора генотипа: $F_{(5, 237)} = 25.45$; $p < 0.001$.

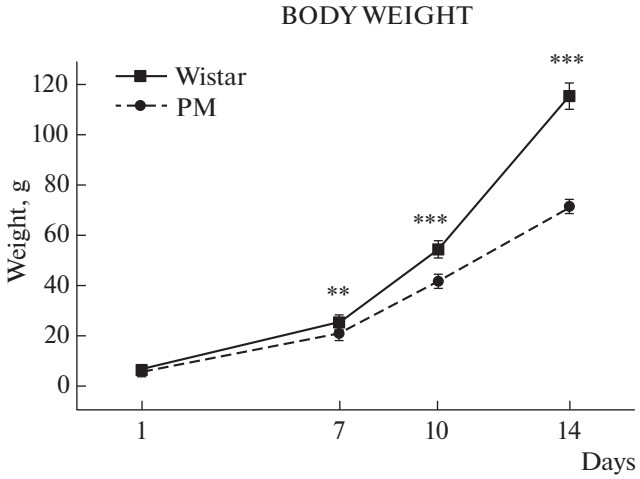


Рис. 4. Масса тела у крыс Вистар и МД. Различия достоверны по фактору генотипа $F_{(1,58)} = 5.0$; $p < 0.03$ и возрасту ($F_{(3, 58)} = 104.1$; $p < 0.000$).

ное для каталептических реакций [26]. В общей сложности, по негативным признакам – времени иммобильности (табл. 1, табл. 2) и по длительности периода с закрытыми глазами, животные МД показывают значимые различия по сравнению с исходной линией Вистар. В целом кататонические черты – “позитивные” и “негативные”, прослеживаются в исследуемой линии МД.

Морфологические параметры. Межлинейные показатели “массы тела” оказались под влиянием фактора генотипа ($F_{(1, 58)} = 5.0$; $p < 0.03$) и возраста ($F_{(3, 58)} = 104.1$; $p = 0.0000$) (см. рис. 4). В итоге набор массы тела у крыс МД прогрессивно уменьшался в критических точках развития – на 7-й, 10-й и 14-й день.

Сходным образом изменялась масса семенников. Отмечено влияние генотипа ($F_{(1, 58)} = 60.3$; $p < 0.000$) и возраста ($F_{(3, 58)} = 385.9$; $p < 0.000$). На рис. 5а видно, что масса семенников достоверно отстает у крыс МД по сравнению с Вистар, начиная с 10-й дня и разница между массой семенников у крыс разных линий увеличивается к 14-й дню. Однако отношение массы семенников к массе тела было достоверно выше у крыс МД по сравнению с крысами Вистар во всех четырех точках (рис. 5b). Эти данные указывают на наличие диспластических черт и на эффект дестабилизации в ходе отбора на усиление МД у селекционируемой линии.

Гормон-липидные параметры.

Показано влияние на уровень холестерина факторов генотипа ($F_{(1, 58)} = 7.37$; $p < 0.01$) и возраста ($F_{(3, 58)} = 54.3$; $p < 0.000$) (рис. 6а). На уровень триглицеридов в крови не было обнаружено эффекта вышеуказанных факторов, однако при использовании дисперсионного анализа установлено значимое влияние взаимодействия факторов генотипа ($F_{(3, 58)} = 6.2$; $p < 0.001$) и возраста ($F_{(3, 58)} = 54.3$; $p < < 0.000$) в зависимости от критической точки неонатального периода (рис. 6b).

По уровню тестостерона в плазме крови и в семенниках не было найдено различий между двумя линиями: $F_{(1, 58)} = 1.6$; $p > 0.05$ и $F_{(1, 58)} = 1.0$; $p > 0.05$ соответственно.

Корреляционный анализ. В корреляционный анализ были включены следующие показатели: масса тела, масса семенников, уровень тестостерона в крови и в семенниках, уровни холестерина и триглицеридов. Коэффициент корреляции обозначен как R. Самые высокие значения у двух линий $R = = 0.72$ и $R = 0.64$ установлены между уровнем холестерина и массой тела и семенников соответственно. Наибольшее количество достоверных корреляций выявлено по взаимосвязи уровня тестостерона в плазме с вышеобозначенными показателями у крыс Вистар, но не для содержания этого гормона в семенниках. К таким показателям, показавшим достоверный R с уровнем тестостерона в плазме крови, были отнесены положительные корреляции у особей Вистар: $R_{\text{тестостерон в семенниках}} = 0.44$; $R_{\text{триглицериды}} = 0.56$ и отрицательные: $R_{\text{масса тела}} =$

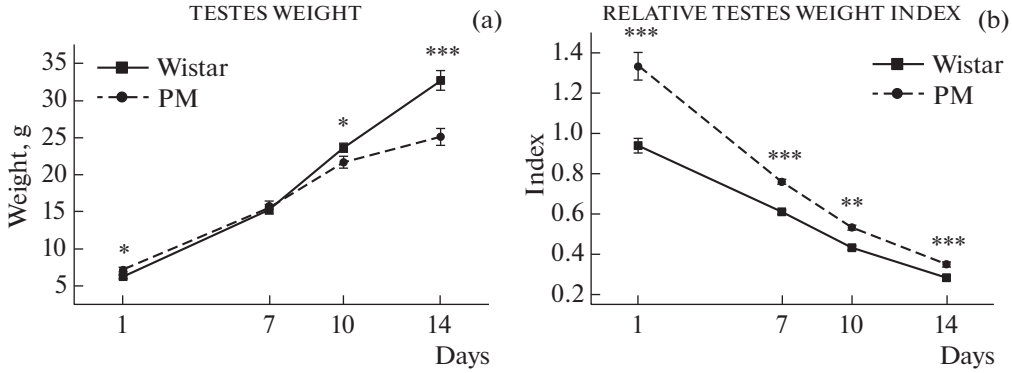


Рис. 5. Масса семенников (a) и индекс относительной массы семенников (b) у крыс Вистар и МД. Различия достоверны по влиянию факторов генотипа ($F_{(1, 58)} = 60.3$; $p < 0.000$) и возраста ($F_{(3, 58)} = 385.9$; $p < 0.000$). Различия достоверны на уровне значимости * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ по LSD-критерию.

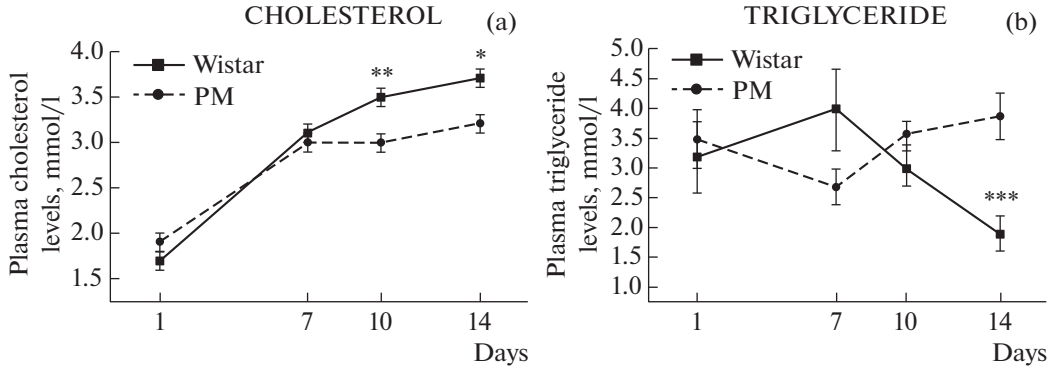


Рис. 6. Уровень холестерина (a) и триглицеридов в плазме крови (b) у крыс МД и Вистар. Различия достоверны по влиянию фактора генотипа (a): $F_{(1, 58)} = 7.37$; $p < 0.01$ и по взаимосвязи факторов генотипа и возраста (b): $F_{(3, 58)} = 6.2$; $p < 0.001$. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ отмечены различия на уровне значимости и # $p = 0.07$ – тенденция по LSD-критерию.

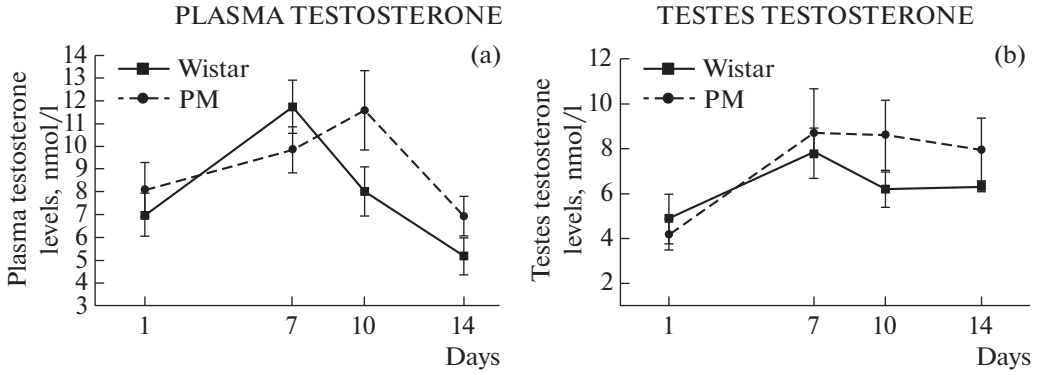


Рис. 7. Уровень тестостерона в плазме крови (a) и тестостерона в семенниках (b) у крыс МД и Вистар. Различия недостоверны по влиянию фактора генотипа (a): $F_{(1, 58)} = 1.69$; $p < 0.02$) и (b): $F_{(1, 58)} = 1.0$; $p < 0.02$).

$= -0.38$; $R_{\text{масса семенников}} = -0.48$. Для линии МД коэффициенты корреляций между уровнем тестостерона в плазме крови с вышеобозначенными показателями имели низкие и недостоверные значения: $R_{\text{холестерин}} = 0.11$; $R_{\text{триглицериды}} = 0.01$; $R_{\text{масса тела}} = -0.06$; $R_{\text{масса семенников}} = -0.21$. Последние факты указывают на эффект дестабилизации организменных систем, к которому привела селекция на усиление гиперкинеза в линии МД.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе было прослежено развитие ряда фенотипических характеристик в неонатальном периоде у крыс линии МД, которые стали предикторами эпилептиформных реакций у животных в дефинитивном возрасте. Эти реакции были разделены на “отрицательные” и “положительные” проявления. К “отрицательным” признакам были отнесены те, которые развивались с задержкой в онтогенезе или проявлялись в заторможенном состоянии. Эти параметры отражают темпы наследственной изменчивости и, в итоге, могут привести к появлению патологических признаков в линии МД. К таким признакам мы отнесли замедленное развитие локомоторных реакций, повышенную иммобильность, более длительный период времени с закрытыми глазами, сдвиг в циркулярных движениях и отставание в наборе веса тела, более медленный подъем холестерина у крыс МД по сравнению с контролем. “Положительными” считали те признаки, которые имели свойство повышенной возбудимости. Это – большее число стереотипных пароксизмов и более длительный период вокализации. Обе категории признаков – и “отрицательные”, и “положительные”, наблюдаются в значительной степени у крыс линии МД и демонстрируют кататонические черты в селекционируемой линии.

Нам важно было сравнить фенотипические признаки у линий МД и ГК, поставленные в качестве дополнительной задачи в этой работе. На ранних этапах селекции реакции животных с МД исследователи относили их к кататоническому типу реагирования, поскольку этим особям было свойственно проявление маятникообразного гиперкинеза при отсутствии локомоций [27–29]. Однако после 40-го поколения отбора у крыс с МД резко выросла доля аудиогенных припадков (до 83%) [13]. Авторы селекции линии МД стали относить реакции животных к эпилептиформным. Если на

первых этапах селекции линии МД была показана положительная корреляция между МД и спонтанной каталепсией, то на последних стадиях она оказалась отрицательной в форме перевернутого "U" [9]. В настоящее время у крыс линии ГК ("Генетическая" и "Кататония") не наблюдаются МД, тогда как у крыс линии МД обнаруживаются аудиогенные припадки в 90% случаев.

Результаты сравнительного фенотипического анализа линий МД и ГК в дефинитивном возрасте, селекционированные из одной и той же популяции Вистар и содержащиеся в одинаковых условиях вивария ИЦиГ (Новосибирск), показали следующее. Обе эти модели являются предположительно моделью кататонического типа реагирования [9, 27–30]. Между моделью кататонии (линия ГК) и моделью эпилепсии (линия МД) наблюдаются разнонаправленные отклонения по фенотипическим признакам. В список противоположно направленных параметров вошли аудиогенные припадки [15, 31], количество стереотипий [9, 32, 33], рефлекс вздрагивания [9, 15, 31], уровень артериального давления [15, 33], спонтанная каталепсия [7, 15, 31]. Были найдены и сходные характеристики между животными линий ГК и МД. Они проявляются в реакциях повышенной возбудимости в разных тестовых ситуациях. Это – эпилептиформные реакции по результатам ЭЭГ у крыс ГК [34], реакций агрессии по отношению к человеку [29, 35], импульсивность, а также сниженная фертильность [36, 37], более низкий вес тела [15, 31]. Все эти вышеуказанные характеристики – и антагонистические, и сходные с ними, наблюдаются у людей-эпилептиков [38–40].

В настоящей работе изучались фенотипические характеристики в неонатальном периоде у крыс с МД, и по общей картине исследуемых признаков был выявлен ряд сходных черт с линией ГК. У крыс двух линий в этот период обнаружено повышение времени иммобильности, снижение двигательных реакций и пониженный уровень рождаемости [15, 31]. Отличительной особенностью поведения на модели ГК в раннем онтогенезе выделены такие предикторы кататонического поведения, как дискинетические движения и асимметричные позы [41], чего не было показано на модели с МД.

Если мы обратимся к сдвигам в гормонально-метаболической системе, то увидим, что эндофенотипы линий ГК и МД формировались по разным направлениям. Общий показатель холестерина в плазме крови показал разнонаправленные отклонения у крыс ГК [36] и МД (показанные в этой статье) по сравнению с контролем.

В неонатальном периоде протекает половая дифференцировка организма по мужскому типу, формируются нейросекреторные гипоталамические центры, прямые и обратные связи в системе гипоталамус-гипофиз-семенники [42, 43]. У крыс при нормальном протекании к концу этого периода наблюдается снижение уровня половых стероидных гормонов (в том числе, и тестостерона) в крови, обусловленное снижением их секреции клетками Лейдига семенников и замещением эмбрионального типа клеток на дефинитивный. Общий характер динамики тестостерона в крови оказался сниженным по окончании неонатального периода у крыс Вистар и МД. Ранее было установлено смещение пика тестостерона на более поздние сроки у самцов ГК по сравнению с самцами Вистар в раннем возрасте [36], тогда как у особей линии МД не было обнаружено различий в уровнях тестостерона ни в плазме крови, ни в клетках Лейдига семенников. Изменение уровня и продукции тестостерона в развивающемся мужском организме приводит к последующим изменениям в метаболизме, уменьшению мышечной и физической силы и снижению половой функции у взрослых особей [44–46].

Тем не менее у крыс линии МД по результатам корреляционного анализа в неонатальный период развития был выявлен дестабилизирующий эффект тестостерона. Уровень этого андрогена в крови у животных МД не связан коррелятивными отношениями с такими параметрами, как уровни холестерина, триглицеридов и весом семенников. В этом же опыте были установлены достоверные уровни корреляций у крыс Вистар по всем вышеперечисленным параметрам, которые указывали на интегрированность эндокринной системы у животных исходной линии. Факт дестабилизации морфофизиологических параметров подтвержден и у взрослых крыс линии МД по сравнению с животными из популяции Вистар [15].

В период написания статьи для выявления аудиогенных припадков были протестированы неселекционированные крысы Вистар и WAG (Wistar Albino Glaxo) со стереотипным качанием головой, и мы получили в этих группах в общей сложности 10% аудиогенных приступов. В группе неселекционируемых грызунов амплитуда раскачивания головы и плечевого пояса составляла 0.5 см в одну и в другую стороны. В то же время у крыс селекционированной группы МД амплитуда маятникообразных движений достигает до 4 см в обе стороны. В более ранних работах показано возрастание частоты приступов в ходе селекции на усиление МД в линии: от 41% (в 5-м поколении) до 91% (в 23-м поколении) [9, 13, 30, 31]. Таким образом, к 50-му поколению селекции у крыс МД сформировался новый эндофенотип с измененной гормонально-метаболической основой. К его продромальным характеристикам мы отнесли такие параметры, как замедление роста локомоций и набора массы тела и массы семенников, замедленный пик появления циркулярных движений, проявление возбудимых реакций (вокализаций и пароксизмов), снижение уровня холестерина, нарушение корреляционных связей между уровнем тестостерона в крови и морфо-липидными параметрами. Отбор животных по увеличению амплитуды МД от катато-

нических признаков (иммобильности и стереотипий) привел к усилению эпилептиформных реакций у взрослых особей. Выявленные продромальные отклонения в неонатальный период являются неспецифическими и представляют собой основу для появления маятникообразных движений в препубертатном и дефинитивном периодах развития. В перспективе предполагается повлиять на эти признаки, в том числе и фармакологическими методами, приводящими к снижению риска возникновения эпилептиформной патологии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Бюджетной программы № 0259-2021-0016 с использованием оборудования ЦКП “Центр генетических ресурсов лабораторных животных” ФИЦ ИЦиГ СО РАН (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Т.А. Алёхина – планирование эксперимента, сбор и обработка данных поведенческой части работы, написание и редактирование манускрипта. В.С. Плеканчук – сбор и обработка данных поведенческой части работы, редактирование манускрипта. Л.В. Осадчук – сбор и обработка данных биохимической части работы, написание и редактирование манускрипта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sculiera C., Gasparda N.* (2019) New onset refractory status epilepticus (NORSE). Seizure: European Journal of Epilepsy 68: 72–78. https://doi.org/10.1111/epi.14022
2. *Gataullina S., Dulac O., Bulteau C.* (2015) Temporal lobe epilepsy in infants and children. Rev neurologique 171: 252–253. https://doi.org/10.1016/j.neurol.2015.01.559
3. *Camfield P., Camfield C.* (2019) Regression in children with epilepsy. Neurosci Biobehav Rev 96:210–218. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.008
4. *Park J.T., Shahid A.M., Jamoul A.* (2015) Common Pediatric Epilepsy Syndromes. Pediatric Annals 44 (2): e30–e35. https://doi.org/10.3928/00904481-20150203-09
5. *Harrison V.S., Oatman O., Kerrigan J.F.* (2017) Hypothalamic hamartoma with epilepsy: Review of endocrine comorbidity. Epilepsia 58 (2): 50–59. https://doi.org/10.1111/epi.13756
6. *Kaprara A., Huhtaniemi I.T.* (2018) The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. Metabolism 86:3–17. https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.018
7. *Колпаков В.Г., Рицнер М.С., Корнетов Н.А., Самохвалов В.П., Залевский Г.В., Короленко Ц.П.* (1985) Генетические и эволюционные проблемы психиатрии. Ред. А.С. Тимофеева. Наука: 256. [Kolpakov V.G., Richner M.S., Kornetov N.A., Samoshvalov V.P., Zalevskii G.V., Korolenko C.P. (1985) Genetic and evolutionary problems of psychiatry. Ed. Timofeeva. Nauka 256. (in Russ)].
8. *Колпаков В.Г., Алехина Т.А., Барыкина Н.Н., Чугуй В.Ф., Попова Н.К.* (2000) Некоторые физиологические проявления действия гена, контролирующего предрасположенность к маятникообразным движениям у грызунов. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 86 (1): 33–40. [Kolpakov V.G., Alekhina T.A., Barykina N.N., Chuguĭ V.F., Popova N.K. (2000) Physiological manifestations of action of a gene regulating predisposition to a pendulum-like movements in rodents. Russ J Physiol 86(1):33–40. (in Russ)].
9. *Колпаков В.Г., Барыкина Н.Н., Алехина Т.А., Чугуй В.Ф., Попова Н.К., Зоркольцева И.В., Аксенович Т.И.* (1999) О генетических взаимоотношениях каталепсии и маятникообразных движений у крыс. Генетика. 35 (8): 1118–1123. [Kolpakov V.G., Barykina N.N., Alekhina T.A., Chuguĭ V.F., Popova N.K., Zorkol’steva I.V., Aksenovich T.I. (1999) Genetika. Genetic relationships between catalepsy and pendulum movements in rats. 35 (8): 1118–1123. (in Russ)].
10. *Kolpakov V.G., Borodin P.M., Barykina N.N.* (1977) Catatonic behaviour in the Norway rat. Behaviour 62: 190–208.
11. *Беляев Д.К., Бородин П.М.* (1982) Влияние стресса на наследственную изменчивость и его роль в эволюции. Эволюц. генетика Л 35–59. [Belyaev D.K., Borodin P.M. (1982) The impact of stress on the genetic variability and its role in evolution. Evolutionary genetics. L. 35–59. (in Russ)].
12. *Колпаков В.Г., Барыкина Н.Н., Бородин П.М., Серова Л.И.* (1976) Jactatio capitis – двигательная стереопатия у грызунов. Генетика 12 (1): 71–77 [Kolpakov V.G., Barykina N.N., Borodin P.M., Serova L.I. (1976) Jactatio capitis – movement stereotypy in rodents. Genetika 12 (1): 71–77. (in Russ)].
13. *Алехина Т.А., Прокудина О.И., Рязанова М.А., Уколова Т.Н., Барыкина Н.Н., Колпаков В.Г.* (2007) Проявление типологических свойств поведения у линий крыс, селекционированных на усиление и отсутствие маятникообразных движений. Связь с моноаминами мозга. Журн. высш. нерв. деят. 57 (3): 336–343 [Alekhina T.A., Prokudina O.I., Ryazanova M.A., Ukolova T.N., Barykina N.N., Kolpakov V.G. (2007) Typological Characteristics of Behavior in Strains of Rats Bred for Enhancement and Absence of Pendulum Movements. Association with Brain Monoamines. Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 57 (3): 336–343 (in Russ)].
14. *Акулов А.Е., Алехина Т.А., Мешков И.О., Петровский Е.Д., Прокудина О.И., Коптюг И.В., Савелов А.А., Мошкин М.П.* (2014) Отбор на кататонический тип реагирования у крыс: исследование межлинейных различий методом магнитно-резонансной томографии. Журн. высш. нерв. деят. 64(4): 439–447 [Akulov A.E., Alekhina T.A., Meshkov I.O., Petrovskiĭ E.D., Prokudina O.I., Koptiug I.V., Savelov A.A., Moshkin M.P. (2014) Selection for catatonic reaction in rats: a study of interstrain differences by magnetic resonance imaging. Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 64 (4):439–447 (in Russ)].
15. *Алехина Т.А., Кожемякина Р.В.* (2019) Моделирование фокальных приступов с автоматизмами на кры-

сах с маятникообразными движениями. Бюлл. эксп. биол. мед. 168(8): 300–303 [Alekhina T.A., Kozhemyakina R.V. (2019) Modeling of focal seizures with automatisms in rats with pendulum movements. Bull. exp. biol. med. 168 (2): 300–303. (in Russ)].
https://doi.org/10.1007/s10517-019-04-695-7

16. *Clarac F., Vinay L., Cazalets J.R., Fady J.C., Jamon M.* (1998) Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat. Brain. Res. Rev. 28 (1–2): 35–43.
https://doi.org/10.1016/S0165-0173(98)00024-1
17. *Eilam D., Golani I.* (1988) The ontogeny of exploratory behavior in the house rat (*Rattus rattus*): the mobility gradient. Develop. Psychobio. 21 (7): 679–710.
https://doi.org/10.1002/dev.420210707
18. *Schank C.* (2008) The development of locomotor kinematics in neonatal rats: an agent-based modeling analysis in group and individual contexts. J. Theor. Biol. 254: 826–842.
https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.07.024
19. *Manolagas S.C., O'Brien C.A., Almeida M.* (2013) The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. Nat. Rev. Endocrinol. 9 (12): 699–712.
https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.179
20. *Smith L.B., Walker W.H.* (2014) The regulation of spermatogenesis by androgens. Semin. Cell. Dev. Biol. 30:2–13.
https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.02.012
21. *Saad F., Gooren L.* (2009) The role of testosterone in the metabolic syndrome: a review. J Steroid Biochem Mol Biol 114 (1–2):40–43.
https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2008.12.022
22. *Beverlya B.E.J., Furra J.R., Lambrighta C.S., Wilsona V.S., McIntyrec B.S., Fosterc P.M.D., Travlosc G., Gray Jr. L.E.* (2019) *In utero* exposure to simvastatin reduces postnatal survival and permanently alters reproductive tract development in the Crl:CD(SD) male rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 365: 112–123.
https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.01.001
23. *Korczynski R., Korda P.* (1988) Immobility reflex evoked by vertical lifting of the rat. Acta. Neurobiol. Exptl. 48:145–159.
24. *Осадчук Л.В.* (2010) Тестикулярная функция у мышей инбредных линий BALB/clac, PT и CBA/Lac. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 96 (2): 183–190 [Osadchuk L.V. (2010) Testicular function in mice of inbred strains BALB/cLac, PT, and CBA/Lac. Russ. J. Physiol. 96 (2):183–190. (in Russ)].
25. *Осадчук Л.В., Клещев М.А., Бакланов А.В., Бажан Н.М.* (2016) Тестикулярная функция и липидный обмен у самцов мышей с наследственной предрасположенностью к ожирению. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова 102 (3): 340–350 [Osadchuk L.V., Kleschev M.A., Baklanov A.V., Bazhan N.M.. Testicular function and lipid in male mice with hereditary predisposition to obesity. Russ. J. Physiol. 102 (3): 340–350. (in Russ)].
26. *McGrow C.P., Klemm W.R.* (1973) Genetic differences in susceptibility of rats to the immobility reflex ("Animal Hypnosis"). Behav. Genetics. 3 (2): 155–162.
https://doi.org/10.1007/BF01067655
27. *Kolpakov V.G., Barykina N.N., Alekhina T.A., Chepkasov I.L.* (1985) Catalepsy in rats: Its inheritance and relationship to pendulum movements and audiogenic epilepsy. Behav Processes 10 (1–2): 63–76.
https://doi.org/10.1016/0376-6357(85)90118-4
28. *Kolpakov V.G., Alekhina T.A., Barykina N.N., Chugui V.F., Popova N.K.* (2011) Some Physiological Manifestations of the Activity of the Gene Controlling the Predisposition to Pendulum-Like Movements in Rats. Neurosci. Behav. Physiol. 31 (3): 311–316.
https://doi.org/10.1023/a:1010390719547
29. *Барыкина Н.Н., Чугуй В.Ф., Прокудина О.И., Плюснина И.З., Колпаков В.Г.* (2007) Подтверждение положительной взаимосвязи маятникообразных движений с аудиогенной эпилепсией, каталепсией и "нервностью" у крыс. Генетика 48 (7):987–993. [Barykina N.N., Chuguy V.F., Prokudina O.I., Plusnina I.P., Kolpakov V.G. (2007) Confirmation of a positive genetic relationship between pendulum movements, audiogenic epilepsy, catalepsy and "nervousness" in rats. Genetica 48 (7):987–993 (in Russ)].
30. *Колпаков В.Г., Барыкина Н.Н., Чугуй В.Ф., Алехина Т.А.* (1999) Взаимоотношения между некоторыми формами каталепсии у крыс. Попытка генетического анализа. Генетика 35 (6):807–810. [Kolpakov V.G., Barykina N.N., Chuguĭ V.F., Alekhina T.A. (1999) Relationship between certain forms of catalepsy in rats. An attempt at genetic analysis. Genetika 35 (6):807–810. (in Russ)].
31. *Алехина Т.А., Кожемякина Р.В.* (2018) Межлинейные различия по эмоциональным и весовым параметрам у крыс с кататоническим типом реагирования и Вистар. Вавилов. ж. генетики. сел. 22 (4):452–458. [Alehina T.A., Kozhemjakina R.V. (2018) Interlinear differences in emotional and weight parameters in rats with a catatonic type of response and Wistar. Vavilov Journal of Genetics and Breeding 22 (4):452–458. (in Russ)].
https://doi.org/10.18699/VJ18.382
32. *Барыкина Н.Н., Чугуй В.Ф., Алехина Т.А., Рязанова М.А., Уколова Т.Н., Сахаров Д.Г., Колпаков В.Г.* (2009) Обучение крыс, предрасположенных к кататоническим состояниям, в водном тесте Морриса. Журн. высш. нерв. деят. 59 (6):728–735 [Barykina N.N., Chuguy V.F., Alekhina T.A., Ryazanova M.A., Ukolova T.N., Saharov D.G., Kolpakov V.G. (2009) Learning of rats predisposed to catalepsy in Morris water test. Zhurn. vish. nerv. deyat. 59 (6): 728–735. (in Russ)].
33. *Барыкина Н.Н., Чепкасов И.Л., Алехина Т.А., Колпаков В.Г.* (1983) Селекция крыс Вистар на предрасположенность к каталепсии. Генетика. 19 (12):2014–2021 [Barykina N.N., Chepkasov I.L., Alekhina T.A., Kolpakov V.G. (1983) Breeding of Wistar rats for predisposition of catalepsy. Genetica. 19 (12):2014–2021. (in Russ)].
34. *Петрова Е.В., Лучкова Т.И., Пироженко А.В.* (1992) ЭКоГ крыс с генетической каталепсией. Журн. высш. нерв. деят. 42:1009–1017 [Petrova E.V., Luchkova T.I., Pirozhenko A.V. (1992) The ECoG of rats with genetic catalepsy. Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im I P Pavlova. 42 (5):1009–1017. (in Russ)].
35. *Алехина Т.А., Пальчикова Н.А., Кожемякина Р.В., Прокудина О.И.* (2016) Признаки дестабилизации при отборе на кататонию, проявляющиеся в изменении поведенческих и соматовегетативных параметров у крыс. Вавилов. ж. генетики. сел. 20 (1):74–82 [Alekhina T.A., Palchikova N.A., Kozhemyakina R.V., Prokudina O.I. (2016) Destabilization signs in behavioral and somatovegetable parametres of rats selected for catatonia. Vavilov Journal of Genetics and Breeding 20 (1):74–82. (in Russ)].
https://doi.org/10.18699/VJ16.103
36. *Осадчук Л.В., Алехина Т.А.* (2018) Гормональный и метаболический профиль в онтогенезе у самцов крыс при селекции на кататонический тип реагиро-

вания. Ж. эволюц. биохим. физиол. 54 (1): 52–59 [Osadchuk L.V., Alekhina T.A. (2018) Developmental profiles of hormonal and metabolic parameters in male rats selected for catatonic type of response. Zh. Evol. Biokhim. Fiziol. 54 (1):52–59. (in Russ)].

37. *Клещев М.А., Алехина Т.А., Осадчук Л.В.* (2018). Сперматогенная функция семенников у крыс с наследственной предрасположенностью к проявлению кататонических реакций. Вавилов. ж. генетики. сел. 22 (4):400–405 [M.A. Kleshchev, Alekhina T.A., Osadchuk L.V. (2018) The spermatogenic function testes in rats predisposed to the manifestation of catatonic reactions. Vavilov Journal of Genetics and Breeding 22 (4):400–405. (in Russ)]. https://doi.org/10.18699/VJ18.375
38. *Lenz H.* (1970) Pathologische EEG-Befunde bei epileptischen Psychosen, Depression and Schizophrenia. Archiv fur Psychiatrie und Zeitschrift f d ges Neurologie 208:52–60. 1966. https://doi.org/10.1007/BF00341696
39. *Tadokoro Y., Oshima T., Kanemoto K.* (2007) Interictal psychoses in comparison with schizophrenia – A prospective study. Epilepsy 48 (12):2345–2351. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01230.x
40. *Sakakibara E., Nishida T., Sugishita K., Jinde S., Inoue Y., Kiyoto Kasai. K* (2012) Acute psychosis during the postictal period in a patient with idiopathic generalized epilepsy: Postictal psychosis or aggravation of schizophrenia? A case report and review of the literature. Epilepsy Behav. 24 (3):373–376. https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2012.04.127
41. *Igonina T.N., Alekhina T.A., Palchikova N.A., Prokudina O.I.* (2016) Prodromal signs of catatonia are associated with hereditary dysfunction of body systems in rat pups. J Experimental and Integrative Medicine 6 (3):99–108. https://doi.org/10.5455/jeim.270816.or.157
42. *Angelopoulou R., Balla M., Lavranos G., Chalikias M., Kitsos C., Baka S., Kittas C.* (2008) Sertoli cell proliferation in the fetal and neonatal rat testis: a continuous phenomenon? Acta Histochem. 110 (4):341–347. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.10.009
43. *Chen H., Ge R.S., Zirkin B.R.* (2009) Leydig cells: From stem cells to aging. Mol. Cell. Endocrinol. 306 (1–2): 9–16. https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.01.023
44. *Gehrand A.L., Phillips J., Malott K., Raff H.* (2020) Corticosterone, Adrenal, and the Pituitary-Gonadal Axis in Neonatal Rats: Effect of Maternal Separation and Hypoxia. Endocrinology 161 (7):bqaa085. https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa085
45. *Teerds K.J., Huhtaniemi I.T.* (2015) Morphological and functional maturation of Leydig cells: from rodent models to primates. Hum Reprod Update. 21 (3):310–328. https://doi.org/10.1093/humupd/dmv008
46. *Kilcoyne K.R., Smith L.B., Atanassova N., Macpherson S., McKinnell C., van den Driesche S., Jobling M.S., Chambers T.J., De Gendt K., Verhoeven G., O'Hara L., Platts S., Renato de Franca L., Lara N.L., Anderson R.A., Sharpe R.M.* (2014) Fetal programming of adult Leydig cell function by androgenic effects on stem/progenitor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 111 (18): E1924–E1932. https://doi.org/10.1073/pnas.1320735111

PRODROMAL CHARACTERISTICS OF EPILEPSY IN RATS WITH PENDULUM MOVEMENTS

T. A. Alekhina[a], V. S. Plekanchuk[a,b,#], and L. V. Osadchuk[a]

[a] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[b] *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

[#] *e-mail: lada9604@mail.ru*

A model of focal seizures with automatisms is being developed on a strain of rats selected for enhanced pendulum-like movements (PM). At a definitive age, 90% of animals of the PM strain generate seizures to audiogenic stimulation. In contrast to Krushinsky-Molodkina and GEPR-9 (genetically epilepsy-prone rats) strains, populations of which demonstrate generalized seizures, PM rats generate a clonic cascade of seizures – stereotyped jumps reaching a height of 0.5 m at a speed of one jump per second. The PM strain is a new model of epileptiform responses and has not actually been studied in early ontogeny. To detect prodromal symptoms of epilepsy, we set a goal to study behavioral and hormonal/metabolic characteristics of the PM model during the early neonatal period. Wistar rats, the initial strain for selection, served as a control. Prodromal symptoms experimentally detected the PM strain included such characteristics as a slowdown in locomotor activity, increased body and testis weights, an inhibited rise in plasma cholesterol levels on days 10 and 14. PM rats showed a peak shift in circular movements and an increased manifestation of excitable responses, such as vocalizations and paroxysms. A phase change was detected in the plasma triglyceride level. Correlation analysis revealed that in male Wistar rats the testosterone level is negatively correlated with body and testis weights and positively correlated with the blood triglyceride level. By contrast, in PM rats the same correlations were statistically insignificant. These findings indicate a destabilization of the development of morphophysiological characters in PM rats compared to the control Wistar strain. Considering the revealed prodromal symptoms characterizing enhanced pendulum-like hyperkinesis (retarded developmental rate, phase-shifted circular movements and plasma triglyceride levels, correlation changes in phenotypic characters), the PM rat strain can be considered as a model for further investigating the biological basis of epileptiform pathology.

Keywords: PM rat strain, pendulum hyperkinesis, epilepsy, neonatal period, testosterone, cholesterol, triglycerides

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 250–256

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА КАРОТИНОИДОВ ДВУСТВОРЧАТОГО МОЛЛЮСКА *CHAMELEA GALLINA* (LINNAEUS, 1758) В ЧЕРНОМ МОРЕ

© 2021 г. А. В. Бородина[1,*], П. А. Задорожный[2]

[1] ФИЦ ИнБЮМ РАН, Севастополь, Россия

[2] Институт химии ДВО РАН, Владивосток, Россия

**e-mail: borodinaav@mail.ru*

Поступила в редакцию 25.11.2020 г.
После доработки 19.01.2021 г.
Принята к публикации 20.01.2021 г.

Представлены результаты исследований каротиноидов морского двустворчатого моллюска-фильтратора *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), аборигена Черного моря. Ежемесячная динамика содержания суммарных каротиноидов (ССК) имела два выраженных пика: март–апрель–май и сентябрь. Весенний рост ССК происходил в период "цветения" воды и сопровождался визуально отмеченным ростом гонад, его максимум приходился на апрель (1.5 ± 0.5 мг 100 г$^{-1}$). Осенний, менее выраженный – на сентябрь (0.5 ± 0.2 мг 100 г$^{-1}$). Всего в весенних и осенних пробах идентифицировано до 90% от суммы всех каротиноидов (11 свободных каротиноидов и 7 эфиров): β-каротин, диатоксантин, галоцинтиаксантин, амароциаксантин А, фукоксантин, гетероксантин, мактраксантин, аллоксантин, лютеин, зеаксантин, диадиноксантин и эфиры последних семи каротиноидов. Обсуждаются возможные пути трансформации растительных каротиноидов в тканях *Ch. gallina*.

Ключевые слова: каротиноиды, *Chamelea gallina*, метаболизм, мактраксантин, амароциаксантин А, сезонные изменения

DOI: 10.31857/S0044452921030049

ВВЕДЕНИЕ

Chamelea gallina (Linnaeus, 1758), морской вид двустворчатых моллюсков-фильтраторов из семейства Veneridae, имеющий средиземноморское происхождение, но считающийся аборигеном Черного моря, обитает на илисто-песчаных грунтах крымского побережья [1]. Необходимо отметить, что его полный видовой аналог, обитающий в Средиземном море, имеет не только внешние морфологические отличия, вызванные иными условиями обитания, но и приобрел промысловое значение среди стран средиземноморья [2]. Последнее связано с массовым распространением моллюска, его размерами (длина ракушки до 4.5 см) и пищевыми характеристиками [2]. В черноморском регионе *Ch. gallina* достигает длины только 3.0–3.2 см, хотя и является доминирующим видом в сообществах моллюсков на илисто-песчаных грунтах Крыма [1, 3]. Их численность и биомасса в Черном море близки к потенциально промысловым видам зообентоса, однако добыча, кроме Турции, нигде не осуществляется по причине невостребованности [3]. Вероятнее всего, отличия средиземноморского и черноморского вида хамелий имеют не только внешний морфологический характер и требуют более детального анализа. Несмотря на популярность этого вида моллюсков в питании европейцев, подробных исследований состава каротиноидов *Ch. gallina* как одного из важных показателей биологической ценности моллюсков, нигде ранее не проводилось. Так, в конце прошлого века у *Venus gallina* (*Ch. gallina*) был идентифицирован только β-каротин, несмотря на то, что другие представители семейства Veneridae были изучены более подробно [4]. В более поздних работах японских и итальянских ученых представлены результаты исследований состава каротиноидов близкородственных видов, таких как *Paphia amabillis*, *Callista chione* [5, 6]. Отличия в составе каротиноидов между представителями одного семейства, но разных родов и видов очевидны [4].

Помимо малоизученного в целом вопроса о составе каротиноидов и их метаболизме у *Ch. gallina*, отличия средиземноморских и черноморских моллюсков этого вида также остаются малоосвещенными. Изучение адаптаций моллюсков к условиям Черного моря при сравнении их с видовыми аналогами из других регионов М.О. является важным для поиска новых каротиноидных соединений и их путей метаболизма, как это было показано нами ранее [7]. В более ранних работах было установлено, что среди факторов, влияющих на изменение качественного и количественного состава каротиноидов у моллюсков-фильтраторов, в первую очередь необходимо отметить спектр питания, который подвергается сезонным колебаниям, а также репродуктивный цикл моллюска [7]. Целью данной

работы было исследование динамики содержания суммарных каротиноидов в течение годового жизненного цикла и качественного состава каротиноидов моллюска *Ch. gallina,* обитающего у крымского побережья Черного моря.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись двустворчатые моллюски *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), обитающие в смешанном донном сообществе песчаной зоны верхней сублиторали (глубина 0–1 м) бухты Казачья, г. Севастополя. Пробы моллюсков *Ch. gallina* отбирали ежемесячно в количестве от 8 до 15 особей (с длиной раковины 10–20 мм). Исследования состава каротиноидов моллюсков проводились в течение двух лет (2018–2019 гг). Годовая динамика ССК *Ch. gallina* представлена данными за 11 мес, результат на графике соответствует среднему значению для выборки из 8–15 особей. Для изучения качественного состава каротиноидов были отобраны две выборки по 30 животных, одна весной (апрель, май 2019), другая осенью (сентябрь, октябрь 2019).

Спектрофотометрические методы. Мягкие ткани гомогенизировали в фарфоровой ступке с пестиком, затем проводили экстракцию 100%-ным ацетоном [8]. Определение ССК проводили спектрофотометрическим методом [8]. Для снятия спектров видимой области использовали спектрофотометр СФ-2000 и Shimadzu UV-1800. Суммарный экстракт каротиноидов для идентификации методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии (MS) [9] был герметично запаян в ампулы в атмосфере азота и транспортирован при низкой температуре в Институт химии ДВО РАН.

Хроматографические методы и масс-спектрометрия. Разделение пигментов проводилось методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-20 с диодноматричным детектором SPD-M20A; колонка Zorbax Sil 4.6 × 250 мм, скорость потока 1 мл · мин$^{-1}$, в градиенте гексан-ацетон (0–20 мин, гексан-ацетон 8:2 изократические условия; с 20 до 25 мин линейный градиент от до 80% ацетона, 25–35 мин изократический режим гексан-ацетон 2:8). Фракции каротиноидов собирали после разделения (приблизительно 10–15 разделений), объединяли, упаривали досуха на роторном испарителе при 40°C, перерастворяли в метаноле и записывали масс-спектры с использованием масс-спектрометрического детектора низкого разрешения Shimadzu LCMS-2010EV, источник APCI, в режиме регистрации положительных ионов.

Омыление каротиноидов проводили повторным растворением их в 5%-ном растворе KOH в метаноле.

Оценка количественного содержания индивидуальных каротиноидов методом ВЭЖХ проведена методом внутренней нормализации, для фукоксантина использовали поправочный коэффициент 1.5. Отношение максимумов III/II% в спектрах поглощения рассчитывали, как описано в [10, 11]. Количество каротиноидов в этерифицированном виде оценивали после щелочного гидролиза этерифицированной фракции.

Статистический анализ. Статистическую обработку и графическое оформление полученной информации проводили при помощи пакета “Grapher-7”. Результаты расчета суммарных каротиноидов представлены как среднее арифметическое ($\bar{x}$) и стандартная ошибка средней ($S\bar{x}$). Для сравнения содержания каротиноидов в течение года применяли U-критерий Манна–Уитни.

Все усилия были предприняты, чтобы использовать только минимальное количество животных, необходимое для получения надежных научных данных. Настоящая статья не содержит результатов каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтической комиссии ФИЦ ИнБЮМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Внешний вид тканей моллюска *Ch. gallina* представлен на рис. 1. На фоне равномерно окрашенных серо-белых тканей моллюска выделяются ярко окрашенные в желтый цвет гонады. Такой внешний вид тканей с визуально различимыми гонадами наиболее часто встречается в весенние и осенние месяцы года. Малые размеры особей хамелий (длина раковины 15–20 мм) и ограниченное их количество в месте сбора затрудняют подробный анализ состава каротиноидов для каждой ткани.

Динамика суммарных каротиноидов моллюсков *Ch. gallina* представлена на рис. 2. Наиболее высокое содержание ССК приходится на весенние месяцы (пик в апреле). В этот период визуально был отмечен рост репродуктивной ткани (рис. 1).

Качественный состав каротиноидов. Методом ВЭЖХ были идентифицированы следующие каротиноиды и их эфиры (рис. 3, табл. 1).

Суммарный экстракт каротиноидов моллюска содержал значительное количество производных хлорофилла разной степени деструкции, что связано со сложностью удаления содержимого пищеварительного тракта животного при подготовке к экстракции. Кроме того, феофитин *a*, имеющий время удерживания 3 мин, не разделяется с эфирами каротиноидов, что делает необходимым процесс щелочного гидролиза (рис. 3). В этой фракции после омыления были идентифицированы лютеин, зеаксантин, аллоксантин и другие каротиноиды (табл. 1, 2). Хроматограмма омыленного суммарного экстракта пигментов представлена на рис. 3с. На ней видно увеличение относительной доли гетероксантина и мактраксантина, что указывает на их присутствие

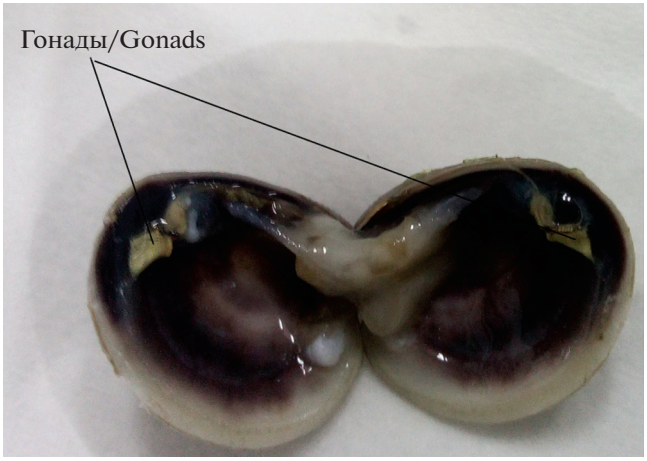


Рис. 1. Ткани моллюска *Ch. gallina* (май 2018).

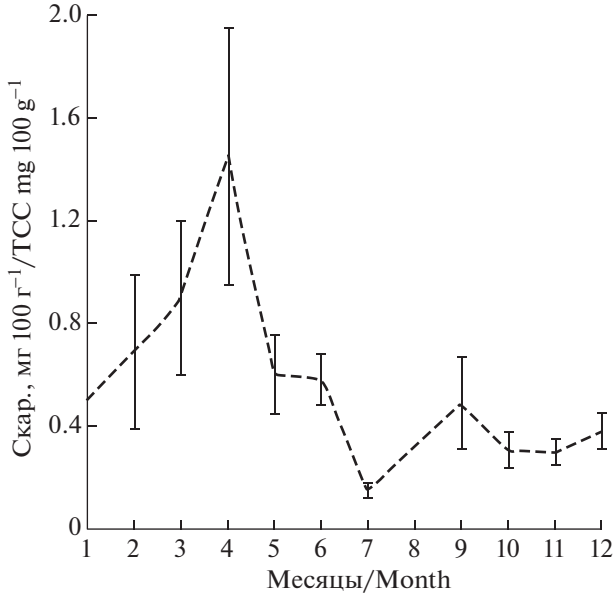


Рис. 2. Годовая динамика содержания суммарных каротиноидов (мг · 100 г$^{-1}$) *Ch. gallina*.

в этерифицированном виде. Отметим достоверные различия в содержании β-каротина, свободных зеаксантина, диатоксантина, аллоксантина и гетероксантина в весенней и осенней выборках. Мактраксантин в свободном виде был обнаружен только весной.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее высокое ССК приходится на весенние месяцы (пик в апреле), что, с одной стороны, соответствует периоду массового развития фитопланктона, т.е. увеличению его количества и разнообразия в пищевом рационе моллюсков [12, 16]. С другой стороны, повышение среднесуточной температуры в прибрежной полуметровой зоне до 15–20°С и наличие обильного питания (фито- и микрозоопланктона) способствуют не только общему росту ССК, но и активному созреванию гонад. По литературным данным, в более глубоких местах обитания (более 20 м) размножение *Ch. gallina* в Черном море у берегов Крыма происходит позднее, в более теплое время года (июль – сентябрь), и совпадает с началом прогрева водных масс до 20–21°С [13].

Как правило, моллюски *Ch. gallina* обитают в смешанных биоценозах, в которых встречаются другие двустворчатые моллюски-фильтраторы, например, такие как *Cerastoderma glaucum* и *Paphia aurea*. По результатам наших исследований, находясь в одном биотопе, эти три вида моллюсков имеют отличия как в годовой динамике ССК, так и в составе каротиноидов [14]. Объяснить это можно только различиями в наборе специфических ферментов, ответственных за трансформацию поступающих с пищей каротиноидов. Кроме того, очевидна связь между ССК и репродуктивным циклом, что также характерно и для других двустворчатых моллюсков-фильтраторов [16]. Особенности тканевого распределения ССК у *Cerastoderma glaucum* и *Paphia aurea* требуют дальнейших исследований.

По сравнению с другими распространенными двустворчатыми моллюсками Черного моря, такими как взрослые особи *Mytilus galloprovincialis* (3.6–8 мг · 100 г$^{-1}$) [17], *Anadara kagoshimensis* (2–6 мг · 100 г$^{-1}$) [7], *Cerastoderma glaucum* (2–8 мг · 100 г$^{-1}$)) [14], у *Ch. gallina* наблюдается более низкий уровень ССК. Этот факт, а также значительное количество производных хлорофилла в суммарном экстракте каротиноидов, являлись существенным препятствием для более подробного исследования сезонной динамики качественного состава каротиноидов. В связи с этим наша работа была ограничена исследованиями двух периодов максимального накопления ССК: весной и осенью. Качественный состав представлен 11 свободными и 7 этерифицированными соединениями, основными (61–68% ССК) являются β-каротин, диатоксантин, аллоксантин, фукоксантин и гетероксантин (табл. 1, 2). Большинство каротиноидов имеют растительное происхождение и могут накапливаться моллюсками непосредственно из фитопланктона фильтруемой взвеси. Сотрудниками нашего института на протяжении многих лет проводилась работа по изучению сукцессий фитоплантона Крымского побережья. Ими было установлено, что видовое разнообразие состава фитопланктона отличается год от года, тем не менее, по многолетним наблюдениям, наибольшим видовым разнообразием обладают весенний и осенний периоды [12]. Эти периоды совпадают с массовым развитием диатомовых водорослей в прибрежной зоне Крыма, которые вызывают “цветение” воды [12]. Различия между весенними и осенними выборками по составу каротиноидов у *Ch. gallina*, по нашему мнению, напрямую связаны с изменением в спектре питания моллюсков (составе планктона) и свето-температурными условиями обитания, которые связаны со сменой сезонов года.

Таблица 1. Идентификация каротиноидов *Chamelea gallina*

Название	Время удерживания (R_t), мин	Максимумы поглощения в элюенте (λ_{max}), нм	Отношение %III/II	m/z иона $[M+H]^+$
β-каротин	2.74	425, 448, 474,	15	537
Эфир мактраксантина	2.9–3.2/32.8*	418, 441, 471*	95*	637*
Эфир гетероксантина	2.9–3.2/30.1*	425, 448, 477*	58*	601*
Эфир аллоксантина	2.9–3.2/19.2*	452, 481*	46*	565*
Эфир лютеина	2.9–3.2/15.2*	448, 473*	44*	–
Эфир зеаксантина	2.9–3.2/15.6*	451, 475*	8*	–
Эфир диадиноксантина	2.9–3.2/19.4*	453, 480*	52*	583*
Лютеин	15.19	448, 473	44	569
Зеаксантин	15.6	451, 475	5	–
Диатоксантин	17.43	450, 476	17	567
Аллоксантин	19.22	452, 481	50	565
Диадиноксантин	19.35	453, 480	56	583
Фукоксантин	27.2**	448, (469)	0	659, 681 $[M+Na]^+$
Галоцинтиаксантин	29.42	448	0	–
Гетероксантин	30.09	425, 448, 477	62	601
Амароциаксантин А	32.55	440	0	–
Мактраксантин	32.88	418, 442, 471	91	637

Примечание: * – после омыления

** – Фракция неразделима со стандартом, выделенным из *Laminaria sp*.

Прочерк означает, что масс-спектр фракции записать не удалось из-за низкой концентрации.

Таблица 2. Состав и относительное содержание каротиноидов *Chamelea gallina*

Каротиноиды Carotenoids	Весенняя проба, %*, Spring sampling, %*	Осенняя проба, %*, Autumn sampling, %*
β-каротин/β-carotene	26.3	42.5
Эфиры каротиноидов/Carotenoids Ester		
Мактраксантина/Mactraxanthin Ester	2	6.3
Гетероксантина/Heteroxanthin Ester	2	4.0
Аллоксантина/Alloxanthin Ester	3	3.0
Лютеина/Lutein Ester		0.3
Зеаксантина/Zeaxanthin Ester	1	0.3
Диадиноксантина/Diadinoxanthin Ester		4.0
Фукоксантина/Fucoxanthin Ester	3	
Лютеин/Lutein	0.5	3.5
Зеаксантин/Zeaxanthin	6.5	1.0
Диатоксантин/Diatoxanthin	12.4	2.5
Аллоксантин/Alloxanthin	8.5	3.0
Диадиноксантин/Diadinoxanthin	2	4.2
Фукоксантин/Fucoxanthin	8	7.0
Галоцинтиаксантин/Halocintiaxanthin	0.6	1.0
Гетероксантин/Heteroxanthin	12.9	6.2
Амароциаксантин А/Amarouciaxanthin A	1	1.5
Мактраксантин/Mactraxanthin	2.5	0
Неидентифицированные/Notidentified	10.8	9.7

*Примечание – за 100% принято суммарное содержание каротиноидов.

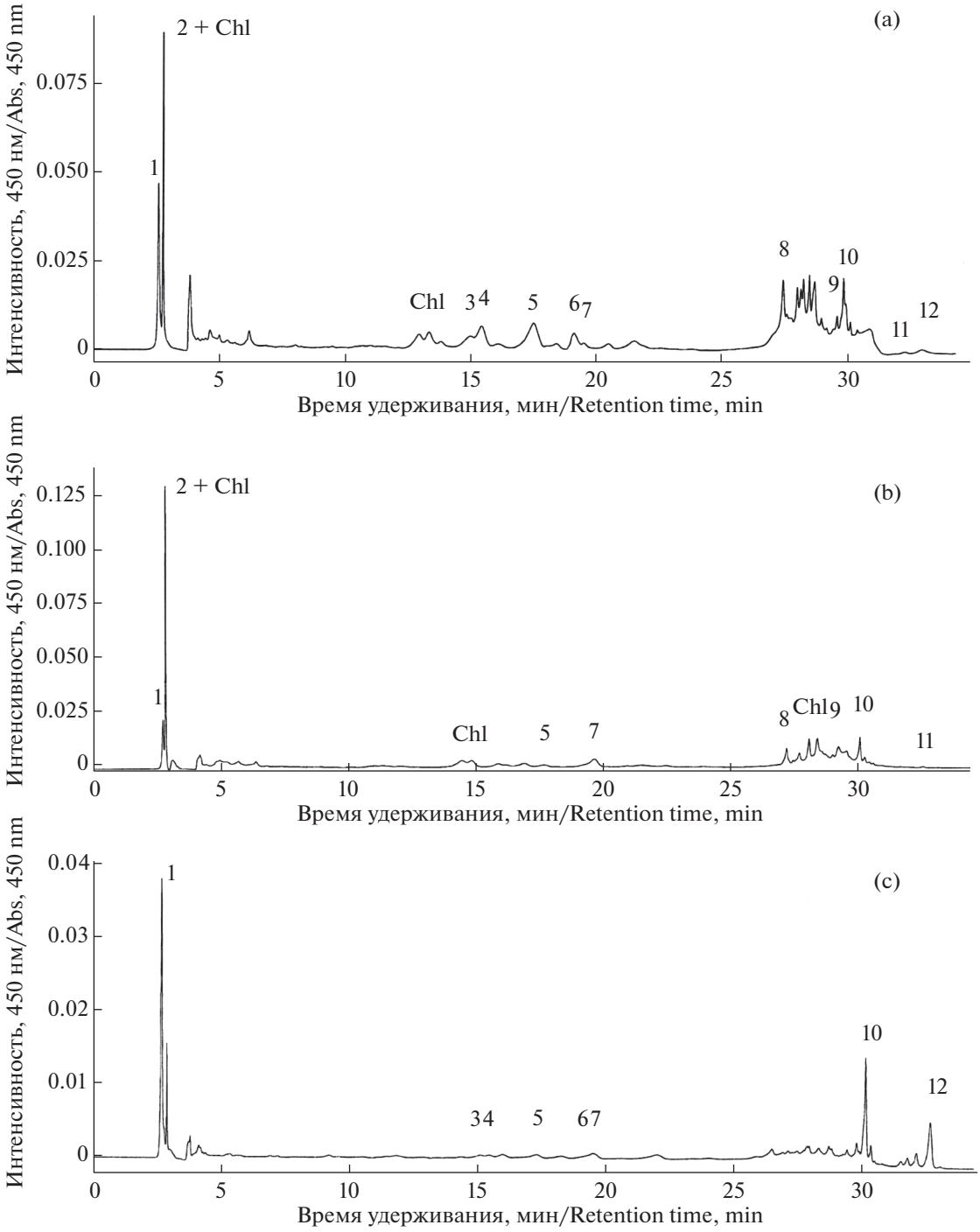


Рис. 3. В ЭЖХ неомыленного (a – весенняя выборка, b – осенняя выборка) и омыленного (c – весенняя выборка) экстракта каротиноидов проб мягких тканей *Ch. gallina*. По оси ординат: интенсивность при 450 нм; по оси абсцисс – время, в минутах. Обозначения пиков: 1 – b-каротин, 2 – эфиры каротиноидов, Chl – хлорофилл, 3 – лютеин, 4 – зеаксантин, 5 – диатоксантин, 6 – аллоксантин, 7 – диадиноксантин, 8 – фукоксантин, 9 – галоцинтиаксанин, 10 – гетероксантин, 11 – амароциаксантин А, 12 – мактраксантин.

Ряд каротиноидов, поступая из пищи, подвергается трансформации в организме животного. К ним относятся амароциаксантин А, галацинтиаксантин, мактраксантин, которые не синтезируются автотрофами. В научной литературе описаны метаболические пути их получения у других двустворчатых моллюсков: фукоксантин → фукоксантинол → амароциаксантин А; фукоксантин → → фукоксантинол → галацинтиаксантиин [17]; образование мактраксантина у моллюсков-фильтраторов связано, скорее всего, с наличием в спектре питания микроводорослей, образующих в своем составе виолоксантин [18]. В составе каротино-

идов *Ch. gallina* имеется гетероксантин, который может накапливаться, которые поступают в биотоп как напрямую из некоторых видов динофлагеллят [19] вместе с потоком распресненных вод, так и посредством трансформации у двустворчатых моллюсков диадиноксантин → гетероксантин [20].

Большое количество и разнообразие этерифицированных каротиноидов указывают на адаптивные способности моллюска *Ch. gallina*, так как эфиры выступают в роли депо для свободных каротиноидов и задействуются в случае необходимости при нехватке/отсутствии в спектре питания; этерификация каротиноидов характерна также и для двустворчатого моллюска *C. glaucum,* обитающего в тех же условиях [14]. В целом состав каротиноидов у *Ch. gallina* и *C. glaucum* сходен на 70–80%. Это может быть объяснено, с одной стороны, близостью этих видов на филогенетическом уровне: они принадлежат одному надотряду (Imparidentia), но разным отрядам: Venerida и Cardiida соответственно, а также сходством условий обитания и кормовой базы в одном биотопе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены первые данные по качественному и количественному составу каротиноидов двустворчатого моллюска-фильтратора *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758), обитающего у крымского побережья Черного моря. Динамика ССК в течение года имеет два выраженных пика: весенний и осенний. Весенний рост ССК происходил в период “цветения” воды и сопровождался визуально отмеченным ростом гонад, его максимум приходился на апрель (1.5 ± 0.5 мг $\cdot$ 100 г$^{-1}$). Осенний, менее выраженный, – на сентябрь (0.5 ± 0.2 мг $\cdot$ 100 г$^{-1}$). Всего в весенних и осенних пробах идентифицировано до 90% от суммы всех каротиноидов (11 свободных каротиноидов и 7 эфиров): β-каротин, диатоксантин, фукоксантин, галоцинтиаксантин, амароциаксантин А, гетероксантин, мактраксантин, аллоксантин, лютеин, зеаксантин, диадиноксантин и эфиры последних каротиноидов. Это указывает на следующие возможные пути трансформации пигментов у этого вида: фукоксантин → фукоксантинол → амаруциаксантин А; фукоксантин → фукоксантинол → галацинтиаксантиин; диадиноксантин → гетероксантин. Видоспецифичным является амароциаксантин А, отмеченный ранее как характерный для других Veneridae [4, 5].

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена по теме государственного задания ФГБУН ИМБИ РАН “Функциональные, метаболические и токсикологические аспекты существования гидробионтов и их популяций в биотопах с различным физико-химическим режимом”. Рег. номер НИОКТР АААА-А 18-118021490093-4; дата рег. 14.02.2018 г. В работе использовали оборудование ЦКП “Дальневосточный центр структурных исследований” ИХ ДВО РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Направление исследований, сбор материала, анализ на ССК, пробоподготовка для транспортировки и отправление для исследований методом ВЭЖХ и МС осуществлялось А.В. Бородиной. Анализ ВЭЖХ и МС, описание этих методов, подготовка таблицы и рисунка (ВЭЖХ) проводилось вторым автором: П.А. Задорожным. При совместном обсуждении двух авторов, написание манускрипта и его редактирование осуществлялось первым автором.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Невесская Л.А.* (1965) Позднечетвертичные двустворчатые моллюски Черного моря, их систематика и экология. М. Наука. [Nevesskaya L.A. (1965) Pozdnechetvertichnye dvustvorchatye mollyuski Chernogo moray, ikh sistematika I ekalogiya. [Late Quaternary bivalve molluscs of the Black Sea, their taxonomy and ecology]. M. Nauka. (in Russ)].
2. *Pinello D., Dimech M., Megahed A., Gazzar El.H.* (2020) Assessment of the commercial chain of bivalves in Egypt. FAO. Fisheries and Aquaculture Circular No. 1196. Rome, FAO.
3. *Еремеев В.Н., Гаевская А.В., Шульман Г.Е., Загородняя Ю.А.* (2011) (ред). Промысловые биоресурсы Черного и Азовского морей. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика. [Eremeev V.N., Gaevskaya A.V., Shulman G.E., Zagorodnyaya Yu.A. (2011) (red). Promislovie bioresursy Chyornogo i Azovskogo morei. [Commercial biological resources of the Black and Azov seas.]. Sevastopol: EKOSI–Gidrofizika. (in Russ)].
4. *Goodwin T.W.* (1984) The biochemistry of the carotenoids: animals. London; New York: Chapman and Hall.
5. *Maoka T., Akimoto N., Yim M.J., Hosokawa M., Miyashita K.* (2008) New C37 skeletal carotenoid from the clam, *Paphia amabillis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (24):12069–12072. https://doi.org/10.1021/jf802717b
6. *Papaioannou Ch.D., Sinanoglou V.J., Strati I.F., Proestos Ch., Kyrana V.R., Lougovois V.P.* (2016) Impact of different preservation treatments on lipids of the smooth clam *Callista chione*. International Journal of Food Science and Technology. 51: 325–332. https://doi.org/10.1111/ijfs.12972
7. *Бородина А.В., Солдатов А.А.* (2014) Каротиноиды тканей массовых видов черноморских моллюсков. С. 87–168. в кн. Черноморские моллюски: элементы сравнительной и экологической биохимии. Шульман Г.Е., Солдатов А.А. (2014) (ред.) Севастополь: ЭКОСИ-Гидро-физика. [Borodina A.V., Soldatov A.A. (2014) Karotinoidy tkanej massovyh vidov chernomorskih mollyuskov. S. 87–168. v kn. Chernomorskie mollyuski: element sravnitelnoj i ekologicheskoj biohimii.

Shulman GE, Soldatov AA (2014) (red.) [Carotenoids of tissues of dominant species of Black Sea shellfish. p. 87–168. In book Black Sea clams: elements of comparative and ecological biochemistry. Shulman G.E., Soldatov A.A. (Eds.)]. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika. (in Russ)].

8. *Карнаухов В.Н.* (1988) Биологические функции каротиноидов. М.: Наука. [Karnaukhov V.N. (1988) Biologicheskie funkcii karotinoidov [Biological functions of carotinoids]. M.: Nauka. (in Russ)].
9. *Maoka T., Akimoto N.* (2008) Natural product chemistry in carotenoid some experimental techniques for structural elucidation and analysis of natural carotenoids. Carotenoid Science (Mini-review) 13: 10–17. https://doi.org/10.3390/md9020278
10. *Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H.* (1995) (Eds.). Carotenoids. V. 1 A. Isolation and Analysis. Basel: Birkhauser Verlag.
11. *Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H.* (1995) (Eds). Carotenoids. V. 1B: Specroscopy. Basel: Birkhäuser Verlag.
12. *Токарев Ю.Н., Финенко З.З., Шадрин Н.В.* (2008) (ред). Микроводоросли Черного моря: проблемы биоразнообразия, сохранения и биотехнологического использования. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика. [Tokarev Yu.N., Finenko Z.Z., Shadrin N.V. (2008) (red). Mikrovodorosli Chyornogo morya: problemy bioraznoobraziya, sohraneniya i biotekhnologicheskogo ispol'zovaniya [Black Sea microalgae: biodiversity, conservation and biotechnology use issues]. Sevastopol: EKOSI–Gidrofizika. (in Russ)].
13. *Ревков Н.К., Тимофеев В.А., Лисицкая Е.В.* (2014) Состав и сезонная динамика макрозообентоса локального биотического комплекса *Chamelea gallina* (западный Крым, Черное море). Экосистемы, их оптимизация и охрана 11: 247–259. http://nbuv.gov.ua/UJRN/ecooo_2014_11_35
14. *Бородина А.В.* (2017) Особенности накопления каротиноидов некоторыми черноморскими моллюсками - фильтраторами *in vivo*. Материалы научных мероприятий, приуроч. к 15-летию Южного научного центра Российской академии наук, г. Ростов-на-Дону, 13–16 декабря, 2017 г. Ростов-н/Д. 351–353. [Borodina A.V. (2017) Osobennosti nakopleniya karotinoidov nekotorymi chernomorskimi mollyuskami-filtratorami *in vivo*. Materialy nauchnyh meropriyatij, priuroch. k 15-letiyu Yuzhnogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk, g. Rostov-na-Donu, 13–16 dekabrya, 2017. [Features of carotenoid accumulation by some Black Sea filter-feeding bivalves in vivo. Materials of scientific events to the 15th anniversary of the Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, December 13–16, 2017] Rostov-n/D. 351–353. (in Russ)].
15. *Поспелова Н.В., Нехорошев М.В.* (2009) Сезонная динамика накопления каротиноидов в мягких тканях культивируемой черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis*. Экология моря 79: 57–62. [Pospelova N.V., Nekhoroshev M.V. (2009) Sezonnaya dinamika nakopleniya karotinoidov v myagkih tkanyah kul'tiviruemoj chernomorskoj midii Mytilus galloprovincialis. Ekologiya morya 79: 57–62. (In Russ)].
16. *Maoka T., Etoh T., Borodina A.V., Soldatov A.A.* (2011) A series of 19 or 19'-Hexanoyloxy carotenoids from the sea mussel, *Mytilus galloprovincialis*, grown in the Black sea of Ukraine. J Agric Food Chem 59: 13059–13064. https://doi.org/10.1021/jf2035115
17. *Maoka T.* (2011) Carotenoids in Marine Animals. Mar Drugs 9: 278–293. https://doi.org/10.3390/md9020278
18. *Bridoux M.C., Sobiechowska M., Briggs R.G., Perez-Fuentetaja A., Alben K.T.* (2017) Separation and Identification of Fatty Acid Esters of Algal Carotenoid Metabolites in the Freshwater Mussel Dreissena bugensis, by Liquid Chromatography with Ultraviolet/Visible Wavelength and Mass Spectrometric Detectorsinseries. J. Chromatogr A. 1513:93–106. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.021
19. *Strain H.H., Svec W.A., Katz J.J.* (1970) Structure of heteroxanthin, a unique xanthophyll from the Xanthophyceae (Heterokontae). J Chem Society D Chem Communic 876–877. https://doi.org/10.1039/C29700000876
20. *Partali V., Tangen K., Liaaen-Jensen S.* (1989) Carotenoids in food chain studies – III. Resorption and metabolic transformation of carotenoids in *Mytilus edulis* (Edible mussel). Comp Biochem Physiol 92B (2):239–246. https://doi.org/10.1016/0305-0491(89)90272-1

SEASONAL DYNAMICS OF CAROTENOIDS IN THE BLACK SEA BIVALVE MOLLUSK *CHAMELEA GALLINA* (LINNAEUS, 1758)

A. V. Borodina[a,#] and P. A. Zadorozhny[b]

[a] *Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia*
[b] *Institute of Chemistry, Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russia*
[#] *e-mail: borodinaav@mail.ru*

The seasonal dynamics of the total carotenoid content (TCC) was studied in the indigenous Black Sea bivalve mollusk *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758). The TCC dynamics showed two distinct peaks: in spring (March–May) and fall (September). The spring elevation in the TCC coincided with phytoplankton blooming and was accompanied by a visually detected growth of the gonads that peaked in April (1.5 ± 0.5 mg 100 g^{-1}). The fall elevation in the TCC, less pronounced, occurred in September (0.5 ± 0.2 mg 100 g^{-1}). Totally, in spring and fall samples, there were identified up to 90% of the TCC: 11 free carotenoids (β-carotene, diatoxanthin, halocintiaxanthin, amarouciaxanthin *A*, fucoxanthin, heteroxanthin, mactraxanthin, alloxanthin, lutein, diadinoxanthin, zaexanthin) and esters of the last seven carotenoids. Possible pathways of transformation of plant carotenoids in *Ch. gallina* tissues are discussed.

Keywords: carotenoids, *Chamelea gallina*, metabolism, amarouciaxanthin *A*, mactraxanthin, seasonal changes

ЖУРНАЛ ЭВОЛЮЦИОННОЙ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ, 2021, том 57, № 3, с. 257–270

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСЦИЛЛЯТОРНОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ОБЕЗЬЯН *MACACA MULATTA*

© 2021 г. А. К. Харауэов[1,*], М. А. Климук[1], В. А. Пономарев[2], Л. Е. Иванова[1], Д. Н. Подвигина[1]

[1] Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

[2] Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

** e-mail: harauzov@infran.ru*

Поступила в редакцию 24.10.2020 г.
После доработки 31.01.2021 г.
Принята к публикации 01.02.2021 г.

Хорошо известно, что ритмическая световая стимуляция способна изменять электрическую активность мозга человека и животных. Причем реакция мозга на определенные частоты мельканий значительно превышает отклики на соседние частоты. Это явление связывают с эффектом резонанса и в качестве доказательства приводят совпадение одного из максимумов в профиле реакции на вспышки с частотой альфа-ритма. Однако другие частоты, вызывающие увеличенную реакцию на вспышки, не находят отражения в виде доминирующих осцилляций в электроэнцефалограмме. Цель данного исследования заключалась в поиске взаимосвязи между локальными максимумами в профиле реакции на вспышки разной частоты и доминирующими осцилляциями мозга, регистрируемыми в электрокортикограмме (ЭКоГ) обезьян без стимуляции.

Исследование было проведено на четырех самцах обезьян *Macaca mulatta*. У трех животных максимальные реакции вызывали вспышки с частотой 8 и 16 Гц, в то время как у одного примата наблюдали пики на частоте 8 Гц и в диапазоне 22–30 Гц. Первый максимум в профиле реакции на ритмическую фотостимуляцию совпадал с доминирующим ритмом, регистрируемым у обезьян в покое в затылочных и теменных областях – 8–10 Гц. Второй максимум на частоте 16 Гц совпал с доминирующим ритмом в ЭКоГ одного примата, когда он был в состоянии эмоционального возбуждения, что может объяснить резонансную природу увеличения ответов в этом частотном диапазоне.

Полученные данные говорят о том, что доминирующие ритмы мозга, в том числе и скрытые ритмы, выявляемые только с помощью ритмической фотостимуляции, могут совпадать по частоте у обезьян и человека. Обсуждаются нейронные механизмы избирательной чувствительности нейронных сетей к различным частотам фотостимуляции.

Ключевые слова: обезьяна, электрокортикограмма, осцилляции, фотостимуляция, резонансная частота

DOI: 10.31857/S0044452921030050

ВВЕДЕНИЕ

Ритмические осцилляции являются фундаментальным и определяющим свойством нейронной активности у человека и животных. Они сложным образом взаимодействуют с ритмами внутренней и внешней среды посредством феномена навязывания ритма или вовлечения нейронов, который привлекает все большее внимание из-за предполагаемой роли во множестве сенсорных и когнитивных процессов [1]. В электрофизиологических исследованиях на человеке [2, 3], обезьянах [4, 5] и кошках [6] было показано, что реакция мозга на ритмическую световую стимуляцию изменяется неравномерно с изменением частоты стимуляции. Зависимость величины ответа от частоты стимуляции, или профиль реакции на вспышки, характеризуется локальными максимумами, предположительно отражающими эффект резонанса, когда частота внешнего воздействия совпадает с частотой внутренних осцилляций мозга, обычно выявляемых в спектре ЭЭГ как доминирующие ритмы.

Гипотеза о резонансной природе фотодинамической реакции была высказана более семидесяти лет назад [2], а затем была принята и экспериментально подтверждена многими исследователями. В основном сообщается об увеличении электрофизиологических реакций в ответ на вспышки с частотой около 10 Гц, соответствующей частоте альфа-ритма, доминирующего в ЭЭГ взрослого человека [7–9]. Однако встречаются электрофизиологические свидетельства существования еще как минимум двух локальных максимумов в профиле реакции на ритмическую световую стимуляцию. В основном они встречаются в бета- и гамма- частотном диапа-

зоне, причем конкретные значения частот не всегда совпадают в разных исследованиях [3, 10, 11]. По нашим данным, прямых соответствий между этими локальными максимумами и доминирующими ритмами в ЭЭГ человека или животных до сих пор не обнаружено.

В настоящее время считается, что дифференцированная работа разных нейронных цепей в головном мозге происходит на разных конкретных частотах; поэтому увеличенная реакция на определенные частоты вспышек демонстрирует способность ритмической световой стимуляции выявлять и подчеркивать резонанс скрытых нейронных осцилляторов, имеющих узкополосную частотную настройку, и межнейронных источников синхронизации [7]. В недавних исследованиях электрической активности, регистрируемой непосредственно с поверхности мозга (электрокортикограмма, ЭКоГ), были зафиксированы осцилляции с частотой 16 Гц в моторной и соматосенсорной коре обезьяны в состоянии покоя [12]. В наших экспериментах в этом же частотном диапазоне был зафиксирован выраженный пик в спектре ЭКоГ обезьяны, находящейся в состоянии эмоционального возбуждения, вызванного просмотром видео [13]. Поэтому логично предположить, что на этой частоте световой стимуляции может быть зафиксирована резонансная реакция в мозге обезьяны.

Таким образом, целью нашего исследования было выявление взаимосвязи между локальными максимумами в профиле реакции на вспышки разной частоты и доминирующими ритмами мозга, регистрируемыми в ЭКоГ обезьян без стимуляции, причем не только в альфа-диапазоне, но и на более высоких частотах. Для этого необходимо тщательно проанализировать резонансные частоты в мозге обезьян с помощью широкого диапазона частот мелькания вспышек и сопоставить полученные данные со спектральными характеристиками ЭКоГ, записанной в отсутствие стимуляции, в разных условиях – в покое и в состоянии эмоционального возбуждения. Профиль реакции мозга на световую стимуляцию разной частоты оценивали с помощью усреднения так называемых устойчивых вызванных потенциалов, отражающих синхронизированную активность нейронов, занятых в обработке зрительного сигнала.

Выбранный метод регистрации биоэлектрической активности мозга является аналогом регистрации ЭЭГ и вызванных потенциалов у человека. Он наиболее подходит для наших целей, так как обладает высоким временным разрешением и, помимо исследовательских целей, применяется в клинической практике, в частности для выявления фотопароксизмальных реакций. Учитывая, что обезьяны являются наиболее близкими к человеку животными по анатомо-физиологическим характеристикам, информацию об электрических процессах в мозге обезьян можно до некоторой степени экстраполировать на людей. Поэтому, помимо фундаментального значения данного вопроса для понимания принципов функционирования человеческого мозга, информация о резонансных частотах важна для создания безопасной визуальной среды в современных условиях проживания человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Подготовка животных к эксперименту

Исследовали электрическую активность головного мозга у четырех обезьян Macaca mulatta, в возрасте от 7 до 15 лет, средний возраст на момент исследования составлял 10 лет. Все обезьяны с рождения содержались в виварии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям биоэтического комитета Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

Каждому животному перед операцией по вживлению электродов были проведены сканирование головного мозга методом магнитно-резонансной томографии и сканирование костей черепа методом компьютерной томографии. На основе томографических данных планировали размещение поверхностных электродов таким образом, чтобы они равномерно охватывали все основные области мозга.

Операции проводили под общим наркозом, используя сочетание препаратов Золетил (в среднем 4.13 мг/кг/ч) и Рометар 2% (0.01 мг/кг/ч). Голову животного фиксировали в стереотаксическом аппарате. Электроды крепили к кости над затылочной, теменной, центральной и лобной областями мозга, по центральной линии, в левом и правом полушарии, по аналогии с международной системой размещения электродов для регистрации ЭЭГ человека “10-20” (рис. 1). Референтный электрод помещали под кожу в загривок. Заземляющий электрод прикрепляли к кости в области вертекса.

В качестве электродов использовали титановые микровинты для краниопластики, которыми крепили к поверхности черепа медные позолоченные пластинки, к которым были припаяны отводящие провода с тефлоновой изоляцией. Длину каждого микровинта подбирали на основе данных о толщине кости черепа, полученных с помощью компьютерной томографии, для каждого животного, в данном участке. Таким образом, микровинты полностью находились в кости, а их концы располагались на расстоянии менее 1 мм от твердой мозговой оболочки. Такая схема позволяла отводить электрические сигналы непосредственно от поверхности мозга животного, что, по сути, являлось регистрацией электрокортикограммы (ЭКоГ) с более высоким пространственным и временным разрешением по сравнению с обычной ЭЭГ, регистрируемой со скальпа [12, 14]. Каждый электрод в месте крепления изолировали с помощью стоматологического цемента. Отводящие провода собирали в пучок в

области макушки для последующего подключения к усилителю. После чего проводили ушивание мягких тканей головы, формируя кольцо вокруг пучка проводов, за которым впоследствии проводили постоянный асептический уход. По окончании всех электрофизиологических экспериментов обезьяну направляли на повторное сканирование костей черепа с помощью компьютерной томографии для верификации положения электродов на черепе. После чего проводили операцию по удалению электродов и остатков цемента из головы животного. Затем, после периода реабилитации, животное возвращали в общий виварий.

Стимуляция, регистрация и анализ биоэлектрической активности

На 5–7-й день послеоперационного восстановления и адаптации к приматологическому креслу начинали эксперименты по регистрации ЭКоГ в покое и вызванных потенциалов на вспышки. Животные находились в приматологическом кресле в темном помещении во время световой стимуляции, а во время регистрации ЭКоГ в покое, без стимуляции – при постоянной освещенности 300 лк. Световую стимуляцию осуществляли с помощью стандартного светодиодного стимулятора “Мицар-фото-02”, расположенного перед головой животного на расстоянии 2 м. Продолжительность каждой вспышки яркостью 30 кандел/м^2 составляла 10 мс.

Всего использовали 21 частоту мелькания вспышек – от 2 до 42 Гц с шагом 2 Гц. Стимуляция начиналась после трехминутной адаптации к темноте с начальной частоты 2 Гц, которая сменялась следующей частотой 4 Гц, затем 6 Гц и так далее по возрастанию. Во время стимуляции движения головы животного ограничивали таким образом, чтобы она была направлена в сторону вспышки. Регистрацию движений глаз не проводили, поэтому, для повышения достоверности данных, стимуляция каждой частотой длилась довольно долго – 3 мин, а каждый полный эксперимент повторяли более 10 раз в отдельные дни.

Электрические потенциалы с поверхности мозга поступали на многоканальный усилитель “Мицар-ЭЭГ 202” с частотой дискретизации 2 кГц. Сопротивление электродов составляло 1–10 кОм. Регистрацию и анализ ЭКоГ осуществляли с помощью программы WinEEG (автор В.А. Пономарев). Электрокортикограмму фильтровали в полосе частот от 1 до 500 Гц. Удаление артефактов, связанных с движениями, осуществляли в автоматическом режиме на основе амплитудного порога, который подбирали для каждого животного эмпирически, путем многократного выполнения процедуры автоматического удаления артефактов с последующим визуальным анализом.

Изменения в ЭКоГ, вызываемые ритмической световой стимуляцией, выявляли с помощью анализа так называемых устойчивых вызванных потенциалов (steady-state evoked potentials). Для каждой частоты стимуляции усредняли участки ЭКоГ длительностью 1 с таким образом, что начало выбранного интервала совпадало с моментом включения первой вспышки в каждой из эпох записи ЭЭГ. В результате усреднения спонтанные колебания электрического потенциала подавлялись, и выделялись синхронные с фотостимуляцией по фазе осцилляции ЭЭГ, соответствующие частоте предъявления вспышек. Мощность этих осцилляций была выбрана нами для оценки величины отклика зрительной системы на вспышки света. Для этого вычисляли мощность синусоидальных составляющих усредненного сигнала ЭКоГ на частотах ритмической стимуляции, что позволяло исключить эффект “растекания” мощности по соседним спектральным отсчетам.

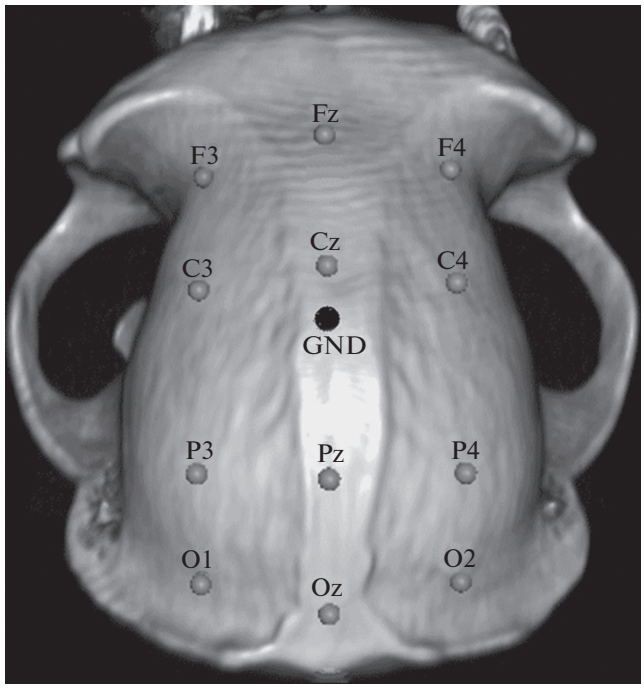


Рис. 1. Схема расположения электродов на черепе обезьяны № 1.

Электрокортикограмму в состоянии покоя регистрировали у бодрствующих приматов в течение 15–20 мин без каких-либо задач и отвлекающих стимулов. Особое внимание уделяли оценке состояния бодрствования – если животное во время регистрации начинало дремать, что отражалось в появлении низкочастотных колебаний в ЭКоГ, такие участки удаляли из записи. Регистрацию электрической активности в покое повторяли у каждого животного более 10 раз в разные дни, что в сумме давало около 3 ч записи.

Для изучения влияния эмоционального возбуждения на осцилляторную активность мозга приматов у трех животных записывали ЭКоГ во время

просмотра видео про своих сородичей, обитающих в дикой природе. Использовали документальные фильмы компании BBC, которые предъявляли с экрана компьютера, расположенного на расстоянии 1 м от головы животного. Для повышения достоверности выявляемых изменений в ритмической активности мозга эксперименты с просмотром фильмов повторяли более 10 раз в разные дни. Длительность каждой записи, как и в условиях покоя, составляла 15–20 мин.

После исключения двигательных артефактов для каждого животного были рассчитаны Фурье-спектры полученной ЭКоГ. Для этого весь анализируемый интервал разбивали на полуперекрывающиеся эпохи, длительностью 4 сек. Для подавления просачивания энергии через боковые максимумы каждый отрезок сглаживался временным окном Ханна. Затем, с помощью "быстрого преобразования Фурье", вычисляли спектр мощности (периодограмму). Статистическую значимость выявляемых закономерностей подтверждали с помощью двухстороннего t-критерия Стьюдента для зависимых или независимых выборок в зависимости от ситуации. За порог достоверности принимали гипотезы с вероятностью ошибки менее 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В состоянии покоя у всех четырех обезьян в спектрах ЭКоГ выделялись пики на частоте 8–10 Гц, которые были максимально выражены в теменных и затылочных отведениях. В центральных и лобных отведениях эти пики имели значительно меньшую амплитуду, либо пропадали совсем. Каких-либо дополнительных доминирующих осцилляций в центральных и лобных областях у обезьян без стимуляции выявлено не было.

У животного № 2 наблюдали второй пик в спектре на частоте около 20 Гц, преимущественно локализованный в теменных областях. Это была единственная обезьяна, у которой в ЭКоГ регистрировали два выраженных ритма, локализованных в различных областях и возникающие в разное время. На рис. 2 представлен фрагмент ЭКоГ животного № 2, в котором видны так называемые веретена осцилляций, длительностью 600 и более мс, с частотой 8 и 20 Гц. Видно, что появление этих ритмов не совпадает по времени и по локализации. Первый ритм с преобладающей частотой 8 Гц наиболее отчетливо проявлялся на канале *Oz*, и по нашим наблюдениям, вероятность его возникновения возрастала, когда обезьяна была более спокойна, расслаблена. Второй ритм чаще всего наблюдали в отведениях P_3 и P_4, частота его варьировала от 18 до 21 Гц, что отражалось в более широком пике в спектре (см. рис. 3). По нашим наблюдениям, этот ритм больше соответствовал состоянию сосредоточенности, когда животное что-нибудь рассматривало, прислушивалось и т.п. Хотя, как следует из рис. 2, оба ритма могут сменять друг друга по нескольку раз за 5–6 сек измерения.

Усредненные по всем измерениям спектры ЭКоГ представлены на рис. 3. Для каждого животного показаны результаты измерения в центре теменной и затылочной области (каналы *Pz* и *Oz* соответственно). Как видно на рисунке, частота пиков в диапазоне 8–10 Гц не зависит от места отведения, меняется только их амплитуда, что предполагает существование общего источника осцилляторной активности, расположение которого относительно регистрирующих электродов немного различается у некоторых животных. Так, если рассматривать величину этих пиков без учета постоянной составляющей (например, как размах между максимумом в центре пика и ближайшим минимумом слева от пика), то у приматов № 1 и № 3 пик 8–10 Гц локализован ближе к теменной области, у животного № 4 он распределен между затылочной и теменной областью, а у животного № 2 этот пик более выражен в затылочной области.

Как уже упоминалось выше, у примата № 2 в спектре отчетливо проявляется второй пик с максимумом частоты в районе 20 Гц. Несмотря на то что осцилляции на этих частотах чаще всего наблюдали в латеральных теменных отведениях (каналы P_3 и P_4), этот пик хорошо виден и в центре теменной области (канал *Pz*), но гораздо слабее прослеживается в центре затылочной области (канал *Oz*).

Во время показа фильмов про макак, животные № 1 и № 3 не проявили особого интереса к видео, и в электрической активности их мозга изменений не наблюдали. В то время как примат № 4, по кличке Юпидер, эмоционально реагировал на предъявляемое видео. Он внимательно смотрел за происходящим на экране, издавал коммуникативные звуки, гримасничал, и по поведению примата было очевидно, что он испытывает сильное эмоциональное возбуждение. Эмоциональное возбуждение, вызываемое просмотром фильма, приводило к снижению мощности пика на частоте 10 Гц и появлению в спектре нового пика на частоте 16 Гц. Наиболее выражены эти изменения были в теменной области.

На рис. 4а представлены усредненные спектры ЭКоГ теменной области у примата № 4 за все время регистрации в состоянии покоя и за все время просмотра фильма. Следует отметить, что мощность для всех частот в спектре, зарегистрированном у обезьяны при просмотре фильма, была примерно в два раза ниже, чем в состоянии покоя (см. левую и правую шкалу на рис. 4а). Особенно это отличие выражено в области низких частот, что отражается в изменении общего наклона спектра.

Мощность ЭКоГ, также как и форма спектров мощности значительно зависела от условий эксперимента. При этом на спектрах мощности ЭКоГ наблюдались хорошо выраженные отдельные пи-

Рис. 2. Пример ЭКоГ примата № 2, находящегося в состоянии покоя. Цифрами показана частота некоторых осцилляций.

ки, величина которых также зависела от условий эксперимента. Предположим, что ЭКоГ представляет собой суперпозицию нескольких сигналов (компонент). Допустим, что некоторое подмножество этих компонент в сумме имеет спектр мощности, представляющий собой монотонно убывающую функцию, причем суммарная мощность этих компонент зависит от условий. Кроме того, имеются другие компоненты, сигналы которых отражаются в пиках на спектре мощности. Учитывая то, что мощность первых компонент может зависеть от условий, непосредственное сравнение спектров мощности не позволяет оценить статистическую значимость зависимости мощности вторых компонент от вида выполняемой обезьяной деятельности. Но если также предположить, что первые и вторые компоненты взаимно некоррелированы, тогда имеется возможность приблизительно оценить величину мощности последних, вычислив площадь заштрихованных областей, показанных на рис. 4b, для каждого спектра отдельно, и выполнить статистическое сравнение этих величин при разных условиях.

Для того чтобы вычислить площадь пика в спектре на частоте 16 Гц, сначала вычисляли суммарную мощность в диапазоне 13–22 Гц, ограничивающем данный пик. Затем из полученного результата вычитали среднее значение мощности на границах этого окна – на частотах 13 и 22 Гц (пустые кружки на рис. 4b), умноженное на число гармоник в указанном диапазоне. Сравнение результатов измерений площади этого пика в покое, полученных за все дни экспериментов ($n = 33$) со значениями, полученными во время просмотра фильма ($n = 23$), показало, что значения различаются с высокой степенью достоверности ($p < 0.001$; двусторонний t-критерий Стьюдента для независимых выборок).

Во время просмотра обезьяной фильма частота этого пика была стабильна в разные дни проведения экспериментов и составляла около 16 Гц. При этом мы не наблюдали других максимумов в диапазоне 10–16 Гц. Поэтому в данном случае уместно говорить именно о появлении нового пика на частоте 16 Гц, а не об увеличении частоты осцилляций с 10 до 16 Гц. В противном случае мы бы наблюдали более широкий пик за счет увеличения ритмической активности на промежуточных частотах этого диапазона, в зависимости от степени эмоционального возбуждения.

Ритмическая световая стимуляция приводила к появлению в спектре мощности электрокортикограммы пиков, соответствующих частоте стимуляции, наряду с которыми наблюдали дополнительные пики, кратные этой частоте. Локализованы все пики преимущественно в затылочных областях. На рис. 5a представлены примеры спектров ЭКоГ затылочной области у животного № 1 во время стимуляции вспышками с различной частотой. Видно, что основная мощность ответа содержится в первой гармонике, соответствующей частоте стимуляции, величина остальных гармоник существенно меньше.

На рис. 5b показаны примеры устойчивых вызванных потенциалов, усредненных в ответ на предъявление вспышек с той же частотой, что на рис. 5a, для того же животного. Все ответы имеют периодическую форму в зависимости от частоты стимуляции, однако они далеки от чистой синусо-

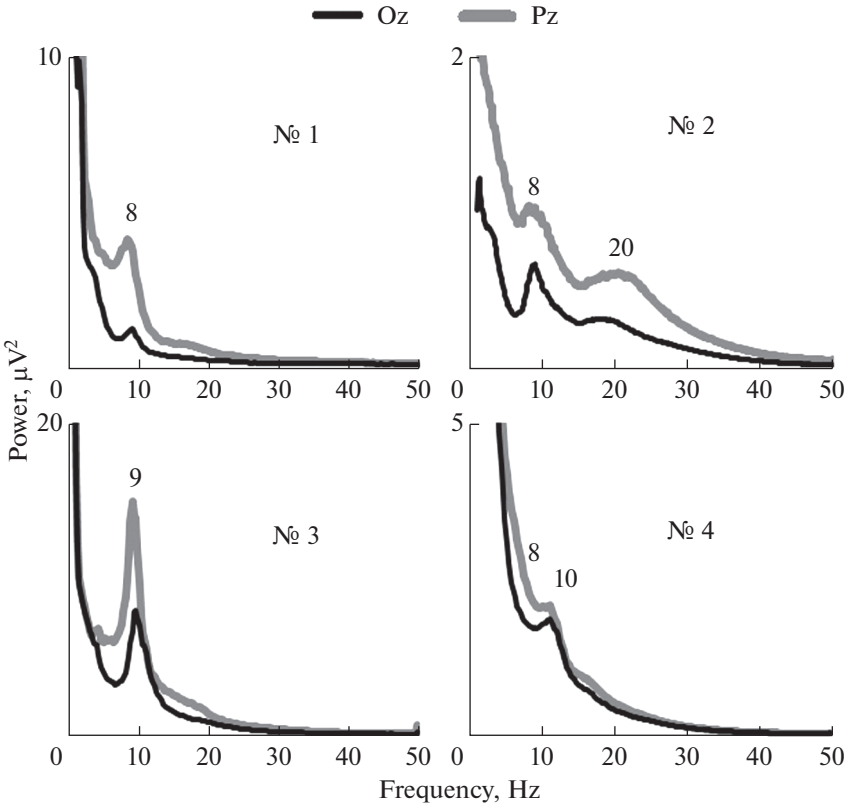


Рис. 3. Спектры ЭКоГ, регистрируемой в центре теменной области (электрод *Pz*, серая линия) и в центре затылочной области (электрод *Oz*, черная линия) у животных № 1, № 2, № 3 и № 4 в покое. Цифрами указана частота доминирующих осцилляций.

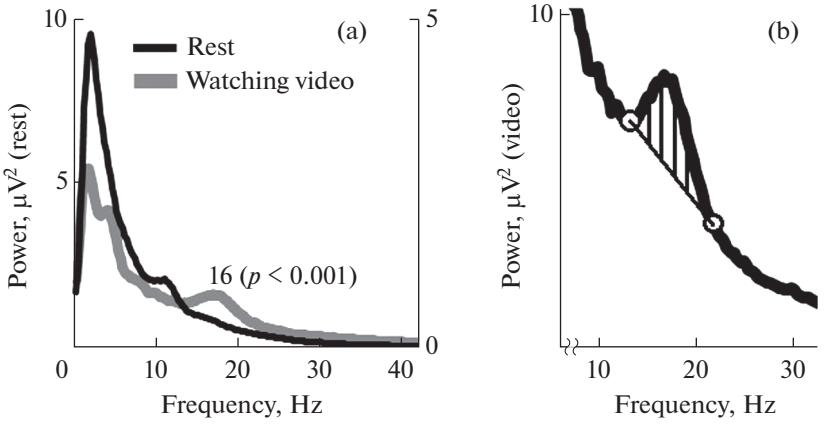


Рис. 4. (a) – Спектры ЭКоГ, регистрируемой у животного № 4 в центре теменной области в покое (черная линия) и в состоянии эмоционального возбуждения (серая линия). (b) – увеличенный участок спектра ЭКоГ, регистрируемой во время просмотра видео, содержащий пик на частоте 16 Гц. Штриховкой указан способ оценки площади этого пика.

иды, что согласуется с наличием в спектрах дополнительных гармоник. За величину ответа принимали амплитуду первой гармоники вызванного потенциала, соответствующей частоте стимуляции. Это значение более точно отражает отклик зрительной системы на вспышки, чем амплитуда первой гармоники в спектре, поскольку вызванные потенциалы синхронизированы по времени со вспышками, соответственно, они менее подвержены влиянию артефактов или ритмов, не связанных со стимуляцией [15].

По результатам каждого эксперимента анализировали зависимость мощности первой гармоники устойчивых вызванных потенциалов от частоты стимуляции, что представляло собой профиль реакции зрительной системы на предъявление вспышек с разной частотой. На рис. 6 представлено 36 профилей реакции, полученных в центре затылоч-

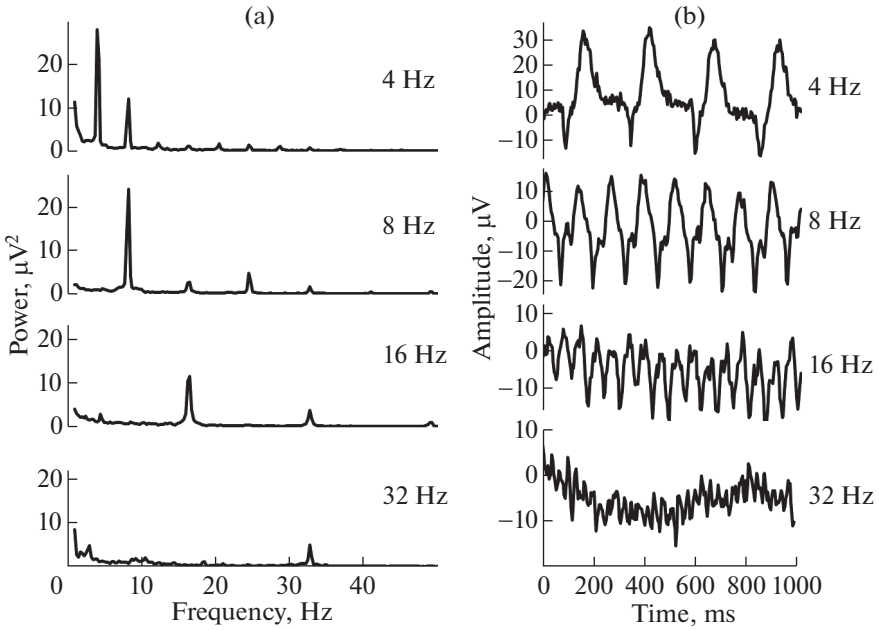


Рис. 5. Примеры спектров ЭКоГ (a) и устойчивых вызванных потенциалов (b) в ответ на периодическую световую стимуляцию. Животное № 1. Отведение от центра затылочной области (электрод *Oz*).

ной области у животного № 1 в разные дни. Каждая линия – результат одного эксперимента. Как видно, мощность ответа сильно варьирует от эксперимента к эксперименту, но форма зависимости достаточно устойчива. У данного животного можно выделить два локальных максимума: первый возникает при частоте стимуляции 6 и 8 Гц, второй наблюдается на частотах 16 и 18 Гц. Отметим, что точная частота, вызывающая максимальный отклик, может меняться день ото дня. Например, во втором резонансном диапазоне максимум чаще всего наблюдается на 16 или 18 Гц, реже встречается максимум на 20 и на 22 Гц. По мере увеличения частоты стимуляции вероятность регистрации максимального ответа снижается. Таким образом, можно говорить об увеличении вероятности возникновения резонансной реакции в двух диапазонах частот 6–8 Гц и 16–18 Гц. Этим объясняется необходимость большого количества повторений одного и того же эксперимента.

На рис. 7 представлены усредненные профили реакции, полученные в 36 экспериментах, проведенных на животном № 1. Показаны все электроды, расположенные в лобных, центральных, теменных и затылочных областях. Наибольшие отклики предсказуемо наблюдали в затылочных отведениях (электроды O_1, *Oz* и O_2), расположенных над областями зрительной коры. По мере удаления от затылочной области мощность ответов на вспышки постепенно снижалась, что отражено в различиях шкал по оси ординат на рис. 7.

Повторяющихся межполушарных различий в профиле реакции не наблюдали. У данного животного мощность ответов на все частоты стимуляции в затылочной области правого полушария была примерно в два раза выше, чем в левом полушарии или в центральном затылочном отведении (см. шкалу ординат в канале O_2 на рис. 7). Однако на других обезьянах такие различия не повторялись. Даже если на левом или правом электродах ответы иногда были сильнее, чем на центральных электродах, их зависимости от частоты стимуляции были менее стабильными, поэтому для дальнейшего анализа мы выбрали центральные электроды, расположенные в затылочной области.

Результаты, полученные на четырех животных, показали, что их профили реакции имеют по крайней мере два локальных максимума в ответах на световую стимуляцию разной частоты (рис. 8). Статистическая значимость этих максимумов была подтверждена с помощью t-критерия для зависимых выборок – в каждом отдельном эксперименте мы сравнили максимальные ответы (отмечены пустыми кружками) с ответами на предшествующие частоты (отмечены пустыми треугольниками). Первый резонансный эффект мы наблюдали в затылочной области у животных № 1, № 2 и № 3 в ответ на стимуляцию с частотой 8 ± 2 Гц. Животное № 4 показало такой же локальный максимум на частоте 8 Гц, но не на затылочном, а на соседнем теменном электроде (на рисунке обозначен серой линией). Второй резонансный пик наблюдался у животных № 1, № 3 и № 4 при частоте стимуляции 16 ± 2 Гц. У животного № 2 наблюдалось усиление ответов в гораздо более высоком и широком частотном диапазоне – с 22 до 30 Гц, а локальный минимум ответов на частоте 20 Гц совпал со вторым

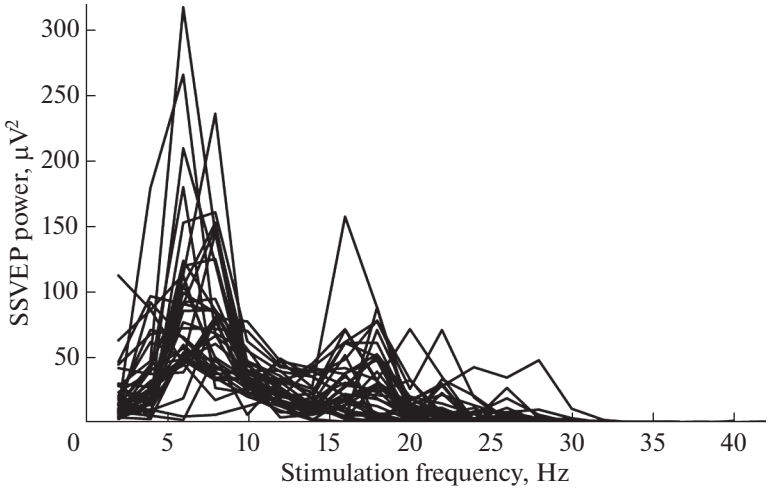


Рис. 6. Зависимости мощности первой гармоники устойчивых вызванных потенциалов от частоты фотостимуляции, полученные на животном № 1 в разные дни эксперимента. (n = 36; электрод *Oz*).

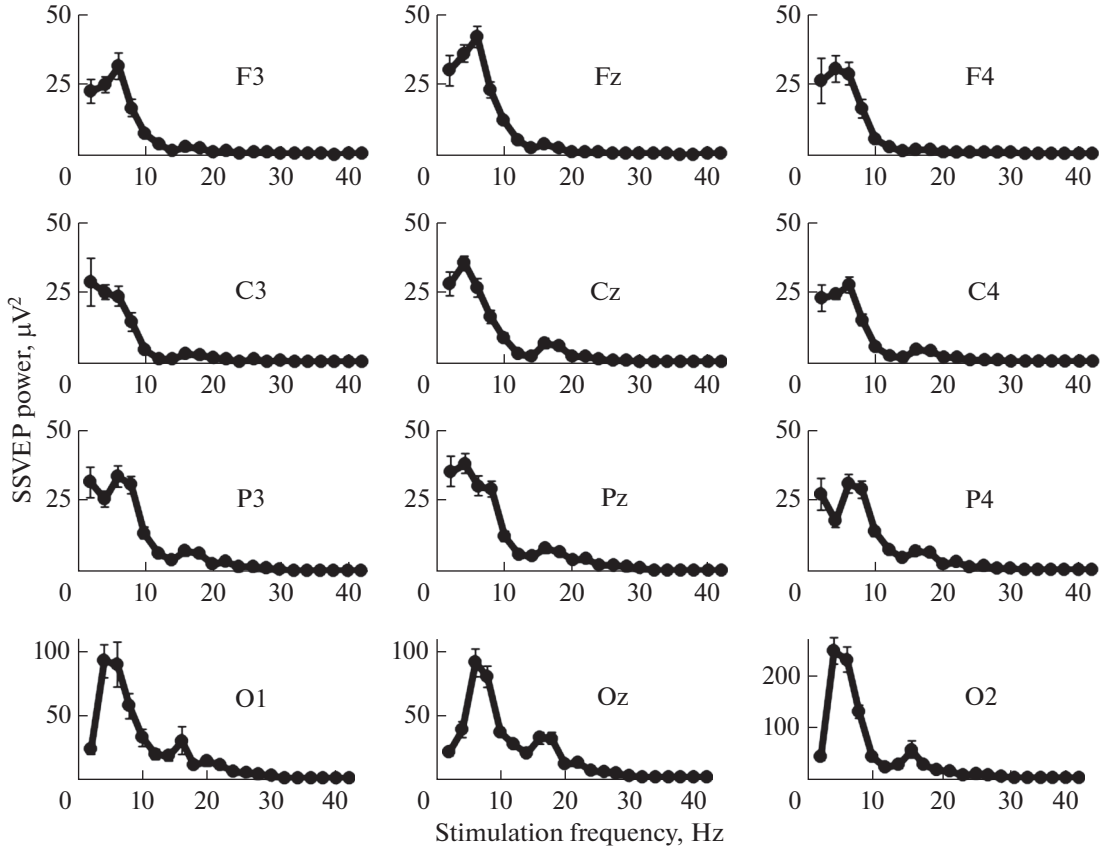


Рис. 7. Усредненные за 36 опытов зависимости мощности первой гармоники устойчивых вызванных потенциалов от частоты фотостимуляции. Животное № 1. Расположение графиков на рисунке примерно соответствует локализации электродов на черепе. Планки погрешности – ошибка среднего.

пиком в спектре ЭКоГ, полученной в покое, без стимуляции (см. рис. 3). У животного № 4 мы также наблюдали небольшое увеличение ответов в диапазоне частот 26–28 Гц с максимумом на частоте 26 Гц. Однако это увеличение не достигло порога статистической значимости (p = 0.18 при сравнении с ответами на вспышки 22 Гц).

Полученные результаты обобщены в таб. 1, где указаны значения частот доминирующих пиков в спектрах ЭКоГ, наблюдаемых у обезьян без стиму-

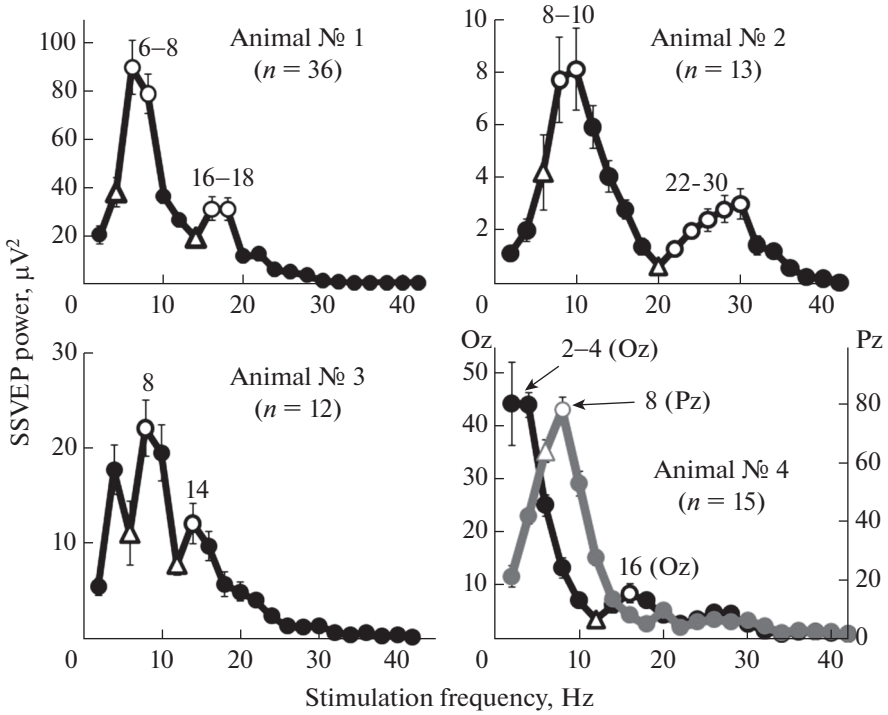


Рис. 8. Усредненные зависимости мощности первой гармоники устойчивых вызванных потенциалов от частоты фотостимуляции у четырех животных. Для всех обезьян показаны результаты затылочного электрода (канал *Oz*, черные линии). Дополнительно, у животного № 4 приведен результат теменного отведения (канал *Pz*, серая линия). Цифрами указаны частоты локальных максимумов. Пустые кружки означают частоты стимуляции, ответ на которые значимо больше, чем на соседние частоты слева, обозначенные пустыми треугольниками (t-тест для зависимых выборок, $p < 0.05$, n – число измерений). Планки погрешности – ошибка среднего.

ляции, в состоянии покоя (и у примата № 4 во время просмотра фильма). Также указаны частоты предъявления вспышек, вызывающих максимальные реакции зрительной системы, регистрируемые с помощью вызванных потенциалов. Для удобства частоты разделены на три диапазона, в которых мы регистрировали резонансные эффекты.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате проведенных экспериментов было показано, что величина вызванных изменений в электрокортикограмме обезьян в ответ на ритмическую световую стимуляцию неравномерно зависит от частоты предъявления вспышек. У большинства обследованных животных максимальные реакции вызывали вспышки с частотой 8 и 16 Гц, в то время как у одного животного наблюдали пики на частоте 8 Гц и в диапазоне 22–30 Гц. Первый максимум в профиле реакции на ритмическую фотостимуляцию совпал с частотным диапазоном доминирующих осцилляций, регистрируемых у обезьян в покое (8–10 Гц). Второй максимум на частоте 16 Гц совпал с доминирующим ритмом в ЭКоГ только одного примата, когда он был в состоянии эмоционального возбуждения.

Профили реакции на вспышки, полученные в наших экспериментах, согласуются с результатами исследований на человеке, проведенных Д. Риганом и соавт. и обобщенных в книге [3]. На основании электрофизиологических и психофизических экспериментов Д. Риган выделяет три функциональных подсистемы в мозге человека, различающихся частотными настройками. Первая, низкочастотная, подсистема настроена на частоты мелькания вспышек около 10 Гц. Вторая, среднечастотная, подсистема максимально активируется при предъявлении вспышек с частотой 16 Гц. Третья, высокочастотная, система настроена на частоты в диапазоне 40–50 Гц. На основе различий в топографическом распределении ответов по скальпу, в латентных периодах, чувствительности к цвету вспышек, делается вывод о различной нейрофизиологической природе этих трех подсистем. Сопоставляя получаемые на человеке данные с результатами анализа нейронной активности латерального коленчатого тела таламуса у обезьян, Риган относит первые две подсистемы к деятельности мелкоклеточного проводящего пути в зрительной системе (Parvo-канал). Третья, высокочастотная, система предположительно отражает активность крупноклеточного проводящего пути (Magno-канал), ее свойства мы не изучали, так как тестируемый диапазон частот был ограничен 42 Гц.

Таблица 1. Частоты доминирующих осцилляций в спектрах ЭКоГ, полученных без стимуляции, и значения локальных максимумов в профилях реакции на световую стимуляцию

№ примата	Диапазон					
	6–10 Гц		14–18 Гц		20–30 Гц	
	Покой	Вспышки	Покой	Вспышки	Покой	Вспышки
№ 1	8	6–8	–	16–18	–	–
№ 2	8	8–10	–	–	20	22–30
№ 3	9	8	–	14	–	–
№ 4	10	8	16 (фильм)	16	–	26 ($p = 0.18$)

Если существование первого резонансного пика в диапазоне 8–10 Гц не вызывает сомнений и было многократно подтверждено [7–9], то относительно пика на частоте 16 Гц в литературе имеются разногласия. Помимо работ Ригана, подтверждение существования резонансного пика в области 16 Гц мы находим в более поздних электрофизиологических исследованиях на человеке – при стимуляции вспышками с частотой 15 Гц [16], и на обезьяне – в области 16 Гц [17]. Однако в работе [10] сообщалось о существовании резонансных пиков у человека на частотах световой стимуляции 10, 20, 40 и 80 Гц, что не согласуется с упомянутыми выше результатами. На наш взгляд, данное расхождение вызвано низкой разрешающей способностью определения максимумов в последней работе. Так, в усредненном профиле реакции на рис. 6 в работе [10] максимальные пики наблюдаются на частотах около 10, 14 и 18 Гц. Следующий по величине пик наблюдается на частоте 37–38 Гц, но при этом в подписи к рисунку утверждается, что резонансные пики выражены на частотах 10, 20 и 40 Гц. Поэтому, на наш взгляд, приведенные в данной статье значения частот свыше 10 Гц следует трактовать с осторожностью.

Соответствие первого локального максимума в профиле реакции на вспышки и частоты доминирующего ритма мозга в покое (альфа-ритма) было обнаружено у человека еще в сороковые годы [18], и с тех пор не подвергается сомнению [7, 9]. Если допустить резонансную природу этого явления, мы должны наблюдать корреляцию между индивидуальными значениями доминирующих частот и соответствующими максимумами в профиле реакции на ритмическую фотостимуляцию. В наших исследованиях это не удалось показать из-за относительно небольших индивидуальных различий в значениях пиковых частот – все значения находились в районе 8 ± 2 Гц, и оценивать корреляцию было нецелесообразно.

Поиск корреляций у человека между индивидуальной частотой альфа-ритма и индивидуальными максимумами ответов на вспышки в диапазоне 8–12 Гц также не увенчался успехом [8], вероятно, по тем же причинам, что и в наших экспериментах. Однако в работе [4] удалось показать, что частоты вспышек, вызывающие максимальный отклик зрительной коры, совпадают с доминирующими частотами в ЭЭГ макак разного возраста. У обезьян на втором месяце жизни частота доминирующего ритма мозга составляла 5–6 Гц и по мере взросления животного увеличивалась до 8–10 Гц. Вероятно, именно разброс от 5 до 10 Гц в частоте доминирующего ритма у обезьян разного возраста позволил установить соответствие с максимальными ответами на вспышки. Поэтому можно предположить, что выявляемый пик на частоте 8 Гц имеет резонансную природу, т.е. при совпадении частоты вспышек с внутренним ритмом мозга происходит существенное усиление ответа, что выражается в увеличении амплитуды навязанного ритма в ЭКоГ.

Нейрофизиологическая природа резонансных реакций в настоящее время продолжает обсуждаться [1, 8, 19]. Согласно одной гипотезе, существование скрытых нейронных осцилляций, как потенциальных резонаторов, возможно на уровне отдельных нейронов за счет подпороговых колебаний мембранного потенциала [20, 21]. Другая гипотеза (не исключающая первую) предполагает, что в основе резонансного усиления ответов лежат динамические свойства нейронных сетей за счет возбудительных и тормозных синаптических взаимодействий [20, 22].

Впервые подпороговые осцилляции мембранного потенциала нейрона были обнаружены в энториальной коре крысы – деполяризация мембраны постоянным током вызывала синусоидальные колебания потенциала в диапазоне частот 5–12 Гц со средним значением 8 Гц [23]. Позднее подпороговые осцилляции мембранного потенциала были обнаружены в других структурах мозга, на разных частотах, а также показана тесная связь между колебаниями мембранного потенциала и резонансными эффектами в экспериментах *in vitro* [20, 24, 25]. В настоящее время считается, что резонансные эффекты на уровне осцилляций мембранного потенциала могут обеспечивать синхронизацию активности отдельных нейронов за счет способности

модулировать частоту потенциалов действия, а также служат для детекции и усиления слабых сигналов (см. обзор [19]).

Ключевую роль в генерации ритмической активности на уровне нейронных сетей играет взаимодействие корковых и таламических нейронов. При этом в таламокортикальных нейронах наблюдается пачечная активность, периодичность которой зависит от уровня деполяризации их мембраны и соответствует частотам осцилляций в диапазоне 2–13 Гц [26–28]. Предполагается, что переход от спокойного бодрствования к сонному состоянию, сопровождающийся сменой альфа-ритма (8–12 Гц) тета-ритмом (4–7 Гц), определяется частотой следования пачек импульсов в таламокортикальных нейронах [28]. Следует отметить, однако, что тета-ритм может также генерироваться в гиппокампе, что связано с процессами запоминания [29].

Осцилляции на более высоких частотах в бета- и гамма- диапазоне генерируются в основном более локальными нейронными сетями, предположительно за счет взаимодействия возбудительных пирамидальных нейронов и тормозных интернейронов коры головного мозга [19, 30]. Так, на срезах соматосенсорной коры крысы фармакологическое повышение возбудимости нейронов приводило к появлению осцилляций на двух частотах: около 40 Гц (в слое 2 коры) и около 25 Гц (в слое 5 коры). Снижение глутаматэргического возбуждения на тех же срезах приводило к исчезновению указанных осцилляций и появлению нового ритма с частотой около 15 Гц [31].

Частота осцилляций обратно пропорциональна размеру нейронной сети, что может быть обусловлено увеличением количества синапсов и, соответственно, временных задержек, в сетях большого размера [32, 33]. Так, в работе [33] резонансная частота зависела от размера мелькающего паттерна из точек – чем больше размер паттерна (соответственно, размер нейронной сети, кодирующей изображение), тем ниже частота мелькания, вызывающая максимальный ответ зрительной коры. Учитывая распространенное мнение, что синхронная активность нейронов необходима для объединения отдельных фрагментов изображения (теория связывания [34]), C.A. Lea-Carnall и соавт. высказывают предположение, что резонансные явления в коре не просто следствие осцилляторных свойств нейронов, а необходимый механизм, обеспечивающий восприятие объекта как единое целое.

Приведенные примеры не охватывают всего разнообразия осцилляторных механизмов мозга, а имеющиеся у нас средства регистрации биоэлектрической активности не позволяют однозначно судить о функциональной роли выявленных резонансных эффектов. Однако на основе различий в частоте локальных максимумов можно сделать следующее предположение о взаимосвязи резонансных реакций. Исходя из имеющихся данных о наличии доминирующей осцилляции в мозге обезьяны на частоте 8 Гц, следует, что каждая вспышка при стимуляции с частотой 8 Гц совпадает с определенной фазой внутреннего ритма (например, с появлением каждой пачки спайков в таламокортикальном нейроне), что, по определению, вызывает резонансное усиление ответа. В случае если фазы внутреннего и внешнего ритма одной частоты не совпадают друг с другом, фаза нейронных осцилляций сдвигается, подстраиваясь под фазу внешнего ритма (так называемый эффект сброса фазы – см. обзор [35]).

Соответственно, стимуляция другими частотами, не совпадающими по времени с появлением пачек нейронных разрядов, не будет вызывать резонанс. Однако при стимуляции с частотой 16 Гц, каждая вторая вспышка будет совпадать с каждой условной пачкой спайков, следующей с частотой 8 Гц. Это должно привести к резонансному усилению ответа, но не такому мощному, как при стимуляции вспышками с частотой 8 Гц, что мы и наблюдаем у животных № 1, № 3 и № 4.

Следуя указанной логике, при внутренней частоте осцилляций 8 Гц, третий резонансный максимум должен наблюдаться на частоте вспышек 24 Гц – тогда каждая третья вспышка совпадет по времени с каждой пачкой разрядов в таламокортикальном нейроне. В наших экспериментах незначительное увеличение ответов в предсказанном диапазоне, при частотах стимуляции 24–28 Гц, мы наблюдали у животного № 4. А у животного № 2 регистрировали достоверное увеличение ответов на вспышки с частотой 22–30 Гц (см. рис. 8). Отметим, что животное № 2 было единственное в нашем исследовании, у которого в спокойном состоянии в ЭКоГ доминировали два ритма – с частотами 8 и 20 Гц. Примечательно, что именно на вспышки с частотой 20 Гц у примата № 2 мы наблюдали снижение мощности ответа, т.е. проявлялся антирезонансный эффект. Причину такого исключения на частоте 20 Гц еще предстоит изучить.

Подтверждение нашей гипотезе о кратности резонансных частот находим в томографических исследованиях на человеке [36]. С помощью метода функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) было показано, что изменение уровня оксигенации крови (BOLD-сигнала, отражающего активность нейронов) в первичной зрительной коре человека нелинейно зависит от частоты световой стимуляции. В профиле реакции BOLD-сигнала на вспышки выявили три значимых локальных максимума: при частотах стимуляции 8, 16 и 24 Гц, т.е. все значения, кратные 8 Гц, что предполагает единый механизм резонансных реакций на данных частотах.

Отсутствие в наших экспериментах различий в локализации амплитуды вызванных потенциалов при стимуляции вспышками разной частоты гово-

рит в пользу существования единого генератора активности, регистрируемой в ЭкоГ приматов. У всех животных максимальные резонансные реакции наблюдали в затылочных отведениях, расположенных над областями первичной зрительной коры. Поэтому из описанных выше потенциальных источников ритмической активности наиболее вероятным кандидатом на роль резонатора на частотах 8 и 16 Гц является нейронная сеть, объединяющая нейроны латерального коленчатого тела таламуса и первичной зрительной коры.

Однако в литературе встречаются свидетельства существования различных механизмов резонансных реакций в зависимости от частоты стимуляции. Так, в сравнительных электрофизиологических и томографических исследованиях на человеке [11] было показано отсутствие корреляции между амплитудой вызванных потенциалов и величиной BOLD-сигнала в ответ на вспышки с частотами 6–12 Гц, но при стимуляции вспышками в диапазоне частот 14–46 Гц эти показатели начинали изменяться синхронно. На основе полученных данных A. Bayram и соавт. заключают, что резонансные явления, наблюдаемые в альфа-диапазоне, имеют принципиально иную природу по сравнению с ответами на вспышки более высоких частот. В отличие от альфа-диапазона, предположительно отражающего таламокортикальные реверберации, осцилляции в бета- и гамма диапазонах требуют взаимодействия локальных тормозных и возбуждающих интернейронов, что приводит к увеличению метаболических потребностей мозга, отражающемуся в увеличении BOLD-сигнала [11].

В связи с этим особый интерес вызывает появление у одной обезьяны, находящейся в состоянии эмоционального возбуждения, выраженных осцилляций в бета- диапазоне. Частота обнаруженного ритма (16 Гц) совпала со вторым локальным максимумом в профиле реакции на вспышки. Однако эти осцилляции были локализованы в теменных областях, в то время как максимальные реакции на вспышки фиксировали в затылочных отведениях.

В литературе пока не встречаются данные о совпадении доминирующих осцилляций в ЭЭГ или ЭКоГ в бета- диапазоне с максимальными ответами на ритмическую фотостимуляцию. В принципе, в ЭЭГ здорового человека в покое доминирует лишь один альфа-ритм. Остальные осцилляции в мозге бодрствующего человека, такие как бета- и гамма- ритмы, обычно не выделяются в спектре как отдельные пики, и их номинальные границы довольно широкие. Однако в недавнем исследовании на макаке в состоянии покоя были зарегистрированы выраженные осцилляции на частоте 16 Гц [12]. С помощью метода независимого компонентного анализа, примененного к данным с большого количества субдуральных электродов, было показано существование трех различных генераторов этой активности. Их расположение перекрывало первичную моторную и сенсомоторную кору и захватывало лобные области мозга.

Существование различных источников генерации одного ритма может объяснить совпадение частоты осцилляций в бета- диапазоне с резонансными частотами в наших экспериментах. Судя по различиям в локализации, мы наблюдали два разных процесса, однако совпадение частот допускает, что обнаруженная ритмическая активность и резонансная реакция на частоте 16 Гц могут быть опосредованно связаны между собой. Учитывая, что ритмическая активность с частотой 16 Гц была обнаружена в различных областях коры, включая теменную (по нашим данным), сенсомоторную и лобную кору (по данным [12]), можно предположить, что нейроны в других областях коры, в том числе и в зрительной коре, также имеют предпочтение к осцилляции на данной частоте. Тогда альтернативным объяснением резонансных реакций на вспышки с частотой 16 Гц может быть совпадение стимуляции с частотной настройкой нейронов зрительной коры, являющихся своего рода скрытыми нейронными осцилляторами.

В любом случае, вне зависимости от того, вызывается ли резонанс на вспышки с частотой 16 Гц пачечной активностью в таламокортикальных сетях на частоте 8 Гц, или же связан с частотной настройкой нейронов зрительной коры на 16 Гц, наши данные указывают на функциональную значимость периодической световой стимуляции с этой частотой. О возможных резонансных эффектах на частоте 16 Гц говорят некоторые клинические исследования на пациентах, склонных к эпилептическим припадкам [37–39]. Во всех этих работах указывается, что эпилептический ответ на фотостимуляцию наиболее часто провоцируется вспышками с частотой стимуляции около 16 Гц. Так, в исследовании [37] на 170 фоточувствительных пациентах было показано, что диапазон опасных частот для таких больных довольно широк: вспышки в диапазоне частот 13–21 Гц вызывали фотопароксизмальный ответ у более чем 80% пациентов, при этом максимум распределения приходился на частоту 16 Гц.

Приведенные данные говорят о том, что доминирующие ритмы мозга, в том числе и скрытые ритмы, выявляемые только с помощью ритмической фотостимуляции, во многом совпадают у обезьян и человека. Наши экспериментальные данные подтверждают пока еще немногочисленные литературные свидетельства о существовании скрытых осцилляций нейронов на частотах, близких к 16 Гц. В определенных условиях они могут быть выявлены в текущей электрокортикограмме обезьяны, но отсутствуют в спектре ЭЭГ человека как отдельный, выраженный ритм.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 63), Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Планирование эксперимента – А.К. Хараузов. Сбор данных – А.К. Хараузов, Л.Е. Иванова, Д.Н. Подвигина. Обработка данных – М.А. Климук, В.А. Пономарев, А.К. Хараузов. Написание манускрипта – А.К. Хараузов. Редактирование манускрипта – В.А. Пономарев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Lakatos P., Gross J., Thut G.* (2019) A New Unifying Account of the Roles of Neuronal Entrainment. Current biology: CB 29 (18), R890–R905. https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.075
2. *Walter V.J., Walter W.G.* (1949) The central effects of rhythmic sensory stimulation. Electroencephalography and clinical neurophysiology 1 (1):57–86.
3. *Regan D.* (1989) Human brain electrophysiology: Evoked potentials and evoked magnetic fields in science and medicine. New York. Elsevier.
4. *María I.* Robert de Ramírez de Arellano (1961). Maturational changes in the electroencephalogram of normal monkeys. Experimental Neurology 3 (2): 209–224. https://doi.org/10.1016/0014-4886(61)90071-1
5. *Nakayama K., Mackeben K.* (1982) Steady state visual evoked potentials in the alert primate. Vision Research 22 (10): 1261–1271. https://doi.org/10.1016/0042-6989(82)90138-9
6. *Rager G., Singer W.* (1998) The response of cat visual cortex to flicker stimuli of variable frequency. Eur J Neurosci 10 (5): 1856–1877. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00197.x
7. *Lazarev V.V., Simpson D.M., Schubsky B.M., Deazevedo L.C.* (2001) Photic driving in the electroencephalogram of children and adolescents: harmonic structure and relation to the resting state. Braz J Med Biol Res 34 (12): 1573–1584. https://doi.org/10.1590/s0100-879x2001001200010
8. *Birca A., Carmant L., Lortie A., Lassonde M.* (2006) Interaction between the flash evoked SSVEPs and the spontaneous EEG activity in children and adults. Clin Neurophysiol 117 (2): 279–288. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.10.001
9. *Spaak E., de Lange F.P., Jensen O.* (2014) Local entrainment of α oscillations by visual stimuli causes cyclic modulation of perception. J Neurosci 34 (10): 3536–3544. https://doi.org/doi:10.1523/JNEUROSCI.4385-13.2014
10. *Herrmann C.S.* (2001) Human EEG responses to 1–100 Hz flicker: resonance phenomena in visual cortex and their potential correlation to cognitive phenomena. Exp Brain Res 137 (3–4): 346–353. https://doi.org/10.1007/s002210100682
11. *Bayram A., Bayraktaroglu Z., Karahan E., Erdogan B., Bilgic B., Ozker M., Kasikci I., Duru A.D., Ademoglu A., Oztürk C., Arikan K., Tarhan N., Demiralp T.* (2011) Simultaneous EEG/fMRI analysis of the resonance phenomena in steady-state visual evoked responses. Clin EEG Neurosci 42 (2): 98–106. https://doi.org/10.1177/155005941104200210
12. *Hindriks R., Micheli C., Bosman C.A., Oostenveld R., Lewis C., Mantini D., Fries P., Deco G.* (2018) Source-reconstruction of the sensorimotor network from resting-state macaque electrocorticography. Neuroimage 181: 347–358. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.06.010
13. *Ivanova L.E., Podvigina D.N., Varovin I.A., Harauzov A.K.* (2019) Electrophysiological indices of emotional arousal in monkeys. Neural networks and neurotechnologies. Saint-Petersburg. BBM. 72–75.
14. *Hacker C.D., Snyder A.Z., Pahwa M., Corbetta M., Leuthardt E.C.* (2017) Frequency-specific electrophysiologic correlates of resting state fMRI networks. Neuroimage 149: 446–457. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.054
15. *Kirasirova L., Bulanov V., Ossadtchi A., Kolsanov A., Pyatin V., Lebedev M.A.* (2020) P300 Brain-Computer Interface With a Reduced Visual Field. Front Neurosci 14: 604629. https://doi.org/10.3389/fnins.2020.604629
16. *Pastor M.A., Artieda J., Arbizu J., Valencia M., Masdeu J.C.* (2003) Human cerebral activation during steady-state visual-evoked responses. J Neurosci 23 (37): 11621–116217. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-37-11621.2003
17. *Salelkar S., Ray S.* (2020) Interaction between steady-state visually evoked potentials at nearby flicker frequencies. Sci Rep 10 (1): 5344. https://doi.org/10.1038/s41598-020-62180-y
18. *Toman J.* (1941) Flicker potentials and the alpha rhythm in man. J Neurophysiology 4 (1): 51–61. https://doi.org/10.1152/jn.1941.4.1.51
19. *Wang X.J.* (2010) Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. Physiological reviews 90 (3): 1195–1268. https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2008
20. *Hutcheon B., Yarom Y.* (2000) Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. Trends Neurosci 23 (5): 216–222. https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01547-2
21. *Buzsáki G., Draguhn A.* (2004) Neuronal oscillations in cortical networks. Science (New York, N.Y.) 304 (5679): 1926–1929. https://doi.org/10.1126/science.1099745
22. *Lea-Carnall C.A., Montemurro M.A., Trujillo-Barreto N.J., Parkes L.M., El-Deredy W.* (2016) Cortical Resonance Frequencies Emerge from Network Size and Connectivity. PLoS Comput Biol 12 (2). https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004740
23. *Alonso A., Llinás R.R.* (1989) Subthreshold Na+-dependent theta-like rhythmicity in stellate cells of entorhinal cortex layer II. Nature 342 (6246): 175–177.

24. *Lampl I., Yarom Y.* (1993) Subthreshold oscillations of the membrane potential: a functional synchronizing and timing device. J Neurophysiol 70: 2181–2186.
25. *Llinás R., Grace A., Yarom Y.* (1991) In vitro neurons in mammalian cortical layer 4 exhibit intrinsic oscillatory activity in the 10- to 50-Hz frequency range. Proc Natl Acad Sci USA 88: 897–901.
26. *Hughes S.W., Lorincz M., Cope D.W., Blethyn K.L., Kekesi K.A., Parri H.R.* (2004) Synchronized oscillations at alpha and theta frequencies in the lateral geniculate nucleus. Neuron 42 (2): 253–268.
27. *Lorincz M.L., Crunelli V., Hughes S.W.* (2008) Cellular dynamics of cholinergically-induced alpha (8–13 Hz) rhythms in sensory thalamic nuclei in vitro. J Neurosci 28: 660–671.
28. *Hughes S.W., Crunelli V.* (2005) Thalamic mechanisms of EEG alpha rhythms and their pathological implications. Neuroscientist. 11 (4): 357–372.
29. *Buzsáki G., Moser E.I.* (2013) Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. Nat Neurosci 16 (2): 130–138. https://doi.org/10.1038/nn.3304
30. *Whittington M.A., Traub R.D., Kopell N., Ermentrout B., Buhl E.H.* (2000) Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. Int J Psychophysiol 38 (3): 315–336.
31. *Roopun A.K., Kramer M.A., Carracedo L.M., Kaiser M., Davies C.H., Traub R.D., Kopell N.J., Whittington M.A.* (2008) Period concatenation underlies interactions between gamma and beta rhythms in neocortex. Front Cell Neurosci 2: 1. https://doi.org/10.3389/neuro.03.001.2008
32. *Koppell N., Ermentrout G.B., Whittington M.A., Traub R.D.* (2000) Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. PNAS USA 97: 1867–1872.
33. *Lea-Carnall C.A., Montemurro M.A., Trujillo-Barreto N.J., Parkes L.M., El-Deredy W* (2016) Cortical Resonance Frequencies Emerge from Network Size and Connectivity. PLoS computational biology 12 (2): e1004740. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004740
34. *Gray C.M., König P., Engel A.K., Singer W.* (1989) Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. Nature 338 (6213): 334–337.
35. *Voloh B., Womelsdorf T.* (2016) A Role of Phase-Resetting in Coordinating Large Scale Neural Networks During Attention and Goal-Directed Behavior. Frontiers in systems neuroscience 10:18. https://doi.org/10.3389/fnsys.2016.00018
36. *Emir U.E., Bayraktaroglu Z., Ozturk C., Ademoglu A., Demiralp T.* (2008) Changes in BOLD transients with visual stimuli across 1–44 Hz. Neurosci Lett 436 (2): 185–188. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.021
37. *Harding G.F., Harding P.F.* (1999) Televised material and photosensitive epilepsy. Epilepsia 40 (4): 65–69. https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00909.x
38. *Lytovchenko T.A.* (2017) Reflex (Stimulus-Sensitive) Epilepsy (Clinical Lecture for Neurologists, Psychiatrists, Pediatric Neurologists and Psychiatrists, Family Doctors). International neurological journal 7 (85): 49–55. https://doi.org/10.22141/2224-0713.7.85.2016.86917
39. *Faught E.* (2004) Attack of the pocket monsters: no lasting effects. Epilepsy currents 4 (5): 198–199. https://doi.org/10.1111/j.1535-7597.2004.04511.x

ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF BRAIN RHYTHMS IN THE RHESUS MONKEY *MACACA MULATTA*

A. K. Harauzov[a,#], M. A. Klimuk[a], V. A. Ponomarev[b], L. E. Ivanova[a], and D. N. Podvigina[a]

[a] *Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*
[b] *N.P. Bekhtereva Institute of Human Brain, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*
[#] *e-mail: harauzov@infran.ru*

It is well known that rhythmic light stimulation can alter the electrical activity of the human and animal brain. Moreover, the brain response to certain flicker frequencies significantly exceeds the responses to neighboring frequencies. This phenomenon is thought to be related with the effect of resonance, as evidenced by the coincidence of one of the maxima in the profile of the response to flashes with the frequency of the alpha rhythm. However, other frequencies that cause an increased response to flashes are not reflected in electroencephalogram (EEG) as dominant oscillations. The goal of this study was to reveal the relationship between local maxima in the profile of the responses to flashes of different frequencies and dominant brain oscillations recorded in electrocorticogram (ECoG) of rhesus monkeys without stimulation.

The study was carried out on four male *Macaca mulatta* individuals. In three animals, peak responses were elicited by flickers at 8 and 16 Hz, while one monkey showed a second peak in the 22–30 Hz range. The first maximum (8–10 Hz) in the profile of the response to rhythmic photostimulation coincided with the dominant rhythm recorded in the occipital and parietal regions at rest. The second maximum at 16 Hz coincided with the dominant ECoG rhythm in one of the primates when it was in the state of emotional arousal, which may account for the resonant origin of the increase in responses in this frequency range.

The data obtained indicate that dominant brain rhythms, including latent rhythms revealed only by rhythmic photostimulation, can coincide in frequency in monkeys and humans. Neuronal mechanisms of selective sensitivity of neural networks to different frequencies of photostimulation are discussed.

Keywords: monkey, electrocorticogram, oscillations, photostimulation, resonance frequency