

ВЛИЯНИЕ ФЛУОКСЕТИНА НА ФУНКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ (ДАННЫЕ *IN VITRO*)

Л.В. Кривенко¹, А.А. Свиридова¹, В.С. Роговский^{1,2}, М.В. Мельников¹⁻³, М.В. Пашенков³, А.Н. Бойко^{1,2}

¹ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, Россия;

³ФГБУ ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

THE INFLUENCE OF FLUOXETINE ON THE FUNCTION OF DENDRITIC CELLS IN MULTIPLE SCLEROSIS (DATA *IN VITRO*)

L.V. Krivenko¹, A.A. Sviridova¹, V.S. Rogovskii^{1,2}, M.V. Melnikov¹⁻³, M.V. Pashenkov³, A.N. Boyko^{1,2}

¹Federal Center of Brain and Neurotechnologies, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Institute of Immunology, Moscow, Russia

Введение. Селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин может оказывать противопалительный эффект при рассеянном склерозе (РС) путем модуляции функций клеток врожденного и адаптивного иммунного ответа.

Цель исследования — изучить влияние флуоксетина на продукцию дендритными клетками цитокинов интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) и ИЛ-6 *in vitro* у больных РС.

Материал и методы. Обследованы 5 больных ремиттирующим РС в стадии клинической ремиссии и 5 здоровых доноров. Для получения незрелых дендритных клеток из мононуклеарных клеток периферической крови путем магнитной сортировки клеток выделяли моноциты, которые затем культивировали с рекомбинантным человеческим гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором и интерлейкином-4 в течение 6 сут. Затем в течение 2 ч клетки преинкубировали в присутствии интерферона- γ , после чего стимулировали липополисахаридом. Для оценки влияния флуоксетина на продукцию ИЛ-1 β и ИЛ-6 образцы дендритных клеток также стимулировали в присутствии флуоксетина в конечной концентрации 10⁻⁶ М. Для изучения рецепторов, способных опосредовать иммуномодулирующий эффект флуоксетина, дендритные клетки были преинкубированы в присутствии антагонистов 5-HT_{1A}-(NAD 299), 5-HT_{2A}-(MDL 100907), 5-HT_{2B}-(RS 127445) рецепторов или агониста 5-HT_{2B}-(BW 723C86) рецепторов в конечной концентрации 10⁻⁶ М, после чего в клетки вносили флуоксетин и стимулировали по вышеописанной схеме. Уровни цитокинов в супернатантах клеточной культуры оценивали методом иммуноферментного анализа.

Результаты. Продукция цитокинов дендритными клетками была сопоставима в обеих группах. Внесение флуоксетина оказало ингибирующий эффект на продукцию цитокинов в обеих группах ($p < 0,01$). Блокада 5-HT_{2B}-рецепторов снижала выраженность ингибирующего эффекта флуоксетина на продукцию ИЛ-1 β в обеих группах и ИЛ-6 в группе здоровых доноров. Активация 5-HT_{2B}-рецепторов, напротив, усиливала ингибирующий эффект флуоксетина на продукцию дендритными клетками ИЛ-6 в обеих груп-

пах ($p < 0,05$ в группе здоровых доноров и $p = 0,055$ в группе больных РС), но не влияла на продукцию ИЛ-1 β . Блокада 5-HT_{1A}- и 5-HT_{2A}-рецепторов не оказала влияния на ингибирующий эффект флуоксетина на продукцию цитокинов ни в одной из групп.

Заключение. Флуоксетин оказывает ингибирующий эффект на продукцию ИЛ-1 β и ИЛ-6 дендритными клетками при РС. Такой эффект может быть опосредован активацией 5-HT_{2B}-рецепторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00436.

* * *

ЭНДОГЕННЫЕ ЛИГАНДЫ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ КАК МЕДИАТОРЫ НЕЙРОИММУННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

У.Ш. Кузьмина¹, М.А. Литвинова¹, К.З. Бахтияров², Ю.В. Вахитова¹

ФГБНУ «Институт биохимии и генетики, Уфимский федеральный исследовательский центр» РАН, Уфа, Россия;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия

ENDOGENEOUS LIGANDS OF GLUTAMATE RECEPTORS AS MEDIATORS OF NEUROIMMUNE INTERACTION IN MULTIPLE SCLEROSIS

U.Sh. Kuzmina¹, M.A. Litvinova¹, K.Z. Bakhtiyarova², Yu.V. Vakhitova¹

¹Ufa Federal Research Center, Ufa, Russia;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Введение. Дисрегуляции глутаматергической системы играют важную роль в патогенезе рассеянного склероза (РС). Ее компоненты являются активными участниками нейроиммунного взаимодействия, которое значимо подвергается изменениям при РС, однако механизмы этих изменений недостаточно изучены. Учитывая, что нарушение функций гематоэнцефалического барьера и миграция иммунных клеток в мозг считаются одним из ключевых патологических процессов при РС, исследование механизмов участия в них рецепторов глутамата, локализованных на иммунных клетках, представляется крайне важным. Следует отметить, что, помимо глутамата, имеется широкий спектр эндогенных лигандов, способных модулировать работу глутаматных рецепторов, среди которых активные компоненты кинуренинового пути — кинуреновая и хинолиновая кислоты, а также глицин, чье участие также показано в патогенезе РС.

Цель исследования — изучение влияния указанных эндогенных лигандов глутаматных рецепторов на адгезию и трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов здоровых доноров и больных РС.

Материал и методы. Анализ адгезии иммунных клеток к эндотелию сосудов проводили в модельной системе с использованием первичных эндотелиальных клеток человека. Для исследования процесса трансэндотелиальной миграции лимфоцитов использовали модифицированные камеры

Бойдена трансвеллы. Направленную миграцию индуцировали добавлением хемоаттрактанта SDF-1 α в нижнюю камеру трансвелла. Эндogenous лиганды рецепторов глутамата использовали в диапазоне концентраций 0,1—1000 мкМ.

Результаты. Глутамат в высоких концентрациях снижает адгезию лейкоцитов, полученных от здоровых лиц и больных РС в стадии ремиссии, к ФНО- α -стимулированным эндотелиоцитам. У больных в стадии обострения заболевания отмечено усиление адгезионной активности клеток при действии глутамата (0,1—100 мкМ). Глицин вызывает дозозависимое повышение адгезии лейкоцитов здоровых доноров и больных РС, более выражено в стадии обострения. Инкубация с кинуреновой кислотой приводит к дозозависимому снижению адгезионных свойств клеток всех групп доноров. Эффект хинолиновой кислоты на адгезионную способность иммунных клеток не обнаружен. При исследовании трансэндотелиальной миграции Т-лимфоцитов больных РС в стадии ремиссии на фоне действия глицина и высоких концентрации глутамата (1000 мкМ) была установлена тенденция к снижению спонтанной миграции клеток. Аналогичные изменения наблюдались и в случае направленной миграции клеток, полученных от здоровых лиц и больных РС в стадии обострения. Глицин (100 мкМ) способствовал снижению SDF-1 α — зависимой трансэндотелиальной миграции лимфоцитов здоровых лиц и больных РС в стадии обострения. При инкубации клеток с кинуреновой кислотой отмечена тенденция к снижению спонтанной миграции. Хинолиновая кислота способствовала усилению миграционной активности клеток, полученных от здоровых и больных РС в стадии ремиссии.

Заключение. Полученные данные указывают на участие глутамата, глицина, активных продуктов метаболизма триптофана в регуляции адгезии и миграции лейкоцитов, что является дополнительным свидетельством их способности выступать медиаторами нейроиммунного взаимодействия. Выявленные различия между исследованными показателями в группах больных РС способствуют пониманию сложности и комплексности регуляции эндогенными факторами функций иммунных клеток и их межклеточных взаимодействий при этой патологии.

Работа выполнена в соответствии с планом госзадания ИБГ УФИЦ РАН (№АААА-Ф16-116020350033-8).

* * *

ВЛИЯНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО И ЯДЕРНОГО ГЕНОМОВ НА РИСК РАЗВИТИЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

О.Г. Кулакова¹, М.С. Козин^{1–3}, И.С. Киселев^{1,2}, Н.М. Баулина^{1,2}, Г.В. Павлова^{1,2}, А.Н. Бойко^{1,3}, О.О. Фаворова¹

¹ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва, Россия;

²Научно-технологический университет «Сириус», Сочи, Россия;

³ФГБУ «Федеральный центр мозга и нейротехнологий» ФМБА, Москва, Россия

THE INFLUENCE OF INTERACTION BETWEEN MITOCHONDRIAL AND NUCLEAR GENOMES ON THE RISK OF MULTIPLE SCLEROSIS

O.O. Kulakova¹, M.S. Kozin^{1–3}, I.S. Kiselev^{1,2}, N.M. Baulina^{1,2}, G.V. Pavlova^{1,2}, A.N. Boyko^{1,3}, O.O. Favorova¹

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

²Scientific Research Center, Sochi, Russia;

³Federal Center of Brain and Neurotechnologies, Moscow, Russia

Введение. Исследования последних лет показали, что развитие полигенных заболеваний может быть ассоциировано не только с вариативностью ядерного генома, но и с носительством вариантов митохондриальной ДНК (мтДНК), а также может модулироваться взаимодействием между различными генетическими вариантами. Это в полной мере относится к рассеянному склерозу (РС) — хроническому заболеванию центральной нервной системы, характеризующемуся аутоиммунным воспалением, демиелинизацией и нейродегенерацией.

Цель исследования — изучение влияния вариативности митохондриального генома на риск развития РС и анализ вклада взаимодействия митохондриального и ядерного геномов в формирование риска заболевания.

Материал и методы. В исследование были включены 540 больных РС и 406 здоровых индивидов, все русской этнической принадлежности. Генотипирование 10 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) мтДНК, а также 35 SNP ядерных генов-кандидатов, белковые продукты которых участвуют в развитии иммунного и воспалительного ответов, выполнено методами на основе ПЦР. С помощью ПО APSampler проведен поиск ассоциированных с РС вариантов мтДНК и их биаллельных сочетаний с вариантами ядерных генов.

Результаты. Показано, что с риском развития РС ассоциированы SNP m.9055*G митохондриального гена *ATP6* ($P_f=0,027$) и шесть биаллельных сочетаний, включающих вариант митохондриального генома в сочетании с вариантом ядерного генома. В качестве компонента мтДНК в сочетания входили варианты m.4216, m.4580 или m.13708, а компонента ядерного генома — аллели генов *IL7R*, *CLEC16A*, *CD6*, *CD86* или *PVT1* ($P_f=0,0036—0,00030$). Обнаружено, что взаимодействия между компонентами двух сочетаний (m.13708*A+*PVT1*rs4410871*T) и (m.4216*C+*PVT1*rs4410871*T) носят эпистатический характер; влияние компонентов остальных сочетаний на развитие РС, по-видимому, определяется аддитивным эффектом.

Заключение. Впервые показано, что отдельные варианты мтДНК поодиночке и во взаимодействии с вариантами ядерного генома вносят вклад в формирование предрасположенности к РС. Существование эпистатических биаллельных сочетаний может отражать подлинный митонуклеарный эпистаз. Впервые полученные данные об эпистатических взаимодействиях, выявленных между ядерным геном *PVT1*, кодирующим длинную некодирующую РНК, и генами мтДНК расширяют наше понимание молекулярных механизмов развития РС.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-315-51003.

* * *