

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ЭФФЕКТЫ МОДУЛЯЦИИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Г. И. Нежинская, А. Л. Владыкин, Н. С. Сапронов¹

Анализ центрального и периферического “холинергического противовоспалительного ответа” показал, что холинергические механизмы являются ведущими в фармакологических эффектах подавления шоковой реакции. В неаопическом варианте шока (эндотоксический шок) центральные агонисты m-AchR, электрическая стимуляция *nervus vagus* и имплантация электрического стимулятора *nervus vagus*, а при атопическом варианте шока (анафилактический шок) антагонисты m-AchR и белки плазмы крови IgG и альбумин снижают патохимическую стадию шока. Модуляция иммунной системы, в частности В-лимфоцитов, может иметь значение не только в терапии шока разного генеза, но и в профилактике гипоксии, стрессовых язв и других заболеваний.

Ключевые слова: м- и н-холинорецепторы, анафилактический шок, эндотоксический шок, В-лимфоциты, серотонин

Модуляция активности холинорецепторов (AChR) представляет значительный интерес для разработки терапевтических подходов к лечению ряда заболеваний, в патогенезе которых имеет место нарушение экспрессии или функций мускариновых (m) и никотиновых (n) AChR. Помимо экспрессии m- и n-AchR в нервной ткани, эти рецепторы представлены на эпителиальных клетках респираторного тракта, кератиноцитах, макрофагах, лимфоцитах и др. [9, 25, 31, 44, 49]. На модели эндотоксического шока были показаны эффекты “холинергического противовоспалительного ответа” [16] и “воспалительного рефлекса” [46], реализацию которых связывали с активацией эфферентных волокон *nervus vagus* и $\alpha 7$ n-AchR, локализованных на клетках иммунной системы. Известно, что эндотоксический шок — наиболее тяжелая форма системного воспалительного ответа (например, при сепсисе, вызывающем повреждение миокардиоцитов, и других заболеваниях) [39]. Лекарственная терапия эндотоксического шока включает гемодинамические, антимикробные и дезинтоксикационные средства и мало учитывает тяжелую дисфункцию иммунной системы, наблюдаемую при этой патологии [1], хотя известно, что продукция клетками иммунной системы фактора некроза опухоли (TNF), интерлейкина-1 β (IL-1 β) и других про- и противовоспалительных цитокинов находится под контролем вегетативной нервной системы [17]. Предполагается, что активация центральных холинергических механизмов позволяет избежать проявления множества побочных эффектов, вызванных усилением холинергической передачи в вегетативных

ганглиях, где основную роль играют $\alpha 3/\beta 4$ n-AchR [15]. Возбуждение ацетилхолином $\alpha 7$ n-AchR на макрофагах ингибирует активацию NF- κ B — ключевого фактора транскрипции, необходимого для синтеза провоспалительных цитокинов [48].

Высокие концентрации провоспалительных медиаторов в очаге воспаления, образующиеся при локальном иммунопатологическом процессе, вызванном микроорганизмами, при ишемии или повреждением ткани, приводят к активации афферентных волокон *nervus vagus*. Последующее распространение сигнала связано главным образом с передачей его в медулярное ядро солитарного тракта, нейроны которого контактируют с преганглионарными нейронами *nervus vagus*, локализованными в дорсальном моторном и двойном ядрах продолговатого мозга. Реципрокные взаимоотношения между ядрами вегетативной нервной системы в продолговатом мозге с вышележащими образованиями, включающими гипоталамус, миндалину и островковую кору, образуют центральную нейрональную структуру, регулирующую эфферентную передачу *nervus vagus*. Важную роль в реализации протекторного эффекта эфферентной стимуляции *nervus vagus* играют иммунокомпетентные клетки в органах ретикулоэндотелиальной системы (печень, селезенка, легкие) [36, 46]. На модели эндотоксического шока у крыс показано, что электрическая стимуляция дистальных участков *nervus vagus* после билатеральной цервикальной ваготомии приводит к снижению в сыворотке крови, печени и селезенке концентрации TNF, а также нивелирует выраженную гипотензию, наблюдаемую при шоке [16]. Хирургическая имплантация электрического стимулятора *nervus vagus* [24], активация эфферентных нейронов мускариновым агонистом (интрацеребровентрикулярное введение в ле-

¹ Отдел нейрофармакологии (руководитель — член-корр. РАМН Н. С. Сапронов) ГУ НИИ экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург, 197376, ул. акад. Павлова, 12.

вый боковой желудочек мозга четырехвалентного гуанилгидразона) [15] также приводят к снижению проявлений эндотоксического шока. Роль иммунной системы в реализации центрального “холинергического противовоспалительного пути” связывают со снижением продукции макрофагами провоспалительных цитокинов, в частности, TNF. Активность макрофагов регулируется наличием непосредственных контактов между ними и холинергическими волокнами. Большую роль в модуляции функциональной активности макрофагов играет селезенка [37]. Введение спленэктомизированным мышам, получившим LPS (липополисахарид *E. coli*), агониста $\alpha 7$ n-AchR никотина увеличивает продукцию макрофагами TNF и количество летальных исходов у мышей [38]. Вместе с тем известно, что протекторная роль В-лимфоцитов в патогенезе эндотоксического шока связана с продукцией иммуноглобулинов класса IgM и активацией комплемента, приводя таким образом эритроциты, тромбоциты и другие клетки к цитолизу [40]. Сроки включения В-лимфоцитов в стадию манифестации эндотоксического шока практически неизвестны. Однако на модели неатопического варианта развития бронхоконстрикторного ответа у мышей, вызванного гаптенем тринитрофенил хлоридом (TNP), было показано, что активация В1-лимфоцитов происходит в плевральной и перитонеальной полости в короткие сроки. Активированные В1-лимфоциты мигрируют в лимфатические узлы и селезенку, где они в течение 15 – 30 мин созревают в IgM-продуцирующие В-лимфоциты. Взаимодействие анти-TNP IgM с конъюгатами TNP-собственный белок организма в ткани легкого приводит к образованию локальных иммунных комплексов, которые активируют систему комплемента, вызывая выброс бронхоконстрикторных медиаторов [32].

Таким образом, анализ изложенных данных позволяет предположить, что в реализации эндотоксического шока, кроме нервных механизмов афферентной и эфферентной стимуляции *nervus vagus*, участвует иммунный компонент, необходимый для его манифестации.

Роль В-лимфоцитов при атопическом варианте развития гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ 1 типа) хорошо известна. Иммунологическую стадию анафилактического шока связывают с началом продукции аллергенспецифических антител класса IgE или IgG1 и формированием бронхиальной гиперреактивности, а патохимическую стадию — с развитием медиаторного ответа тучных клеток и других клеток-эффекторов стенки бронхов [34]. Важность терапии реакций ГНТ актуальна в связи с высоким риском развития астматического статуса, острого ангионевротического отека, острой генерализованной крапивницы, анафилактического шока [28]. Известными подходами патогенетической терапии реакций ГНТ являются применение антигистаминных препаратов, прессорных агентов, бронходилататоров и системных глюкокортикостероидов, направленных на купирова-

ние патологического процесса [12]. При этом не учитываются мускариновые холинергические механизмы, которые участвуют в регуляции бронхиального тонуса [22]. При хронических обструктивных заболеваниях легких и некоторых вариантах бронхиальной астмы наблюдается активация холинергических легочных нервов [13], а также повышенная чувствительность дыхательных путей к действию мускариновых агонистов, приводящих к бронхоконстрикции [30]. Оценка периферического холинергического “противовоспалительного ответа”, проведенная нами на модели анафилактического шока (морские свинки), показала, что с помощью мускаринового антагониста метацина (2 мг/кг за 40 мин до шока) и антихолинэстеразного препарата неостигмина (0,02 мг/кг за 15 мин до шока) можно эффективно предупреждать анафилаксию. Анафилактический индекс по четырехплюсовой системе составил $0,4 \pm 0,2$, в контроле — 4 ± 0 [5]. Возможно, метацин, блокируя m-AchR, таким образом предупреждает вагусную стимуляцию респираторных клеток легкого, вызванную нормальной лошадиной сывороткой, и одновременно блокирует m-AchR клеток легкого, не относящихся к нервной ткани. Норадреналин, высвобождаемый симпатическими нервными окончаниями и мозговым слоем надпочечников, и адреналин, выделяемый мозговым слоем надпочечников, модулируют продукцию цитокинов и функции клеток иммунной системы через α - и β -адренорецепторы [27]. Важность блокады m-AchR подтверждается тем, что агонист m-AchR ацелидин, введенный за 30 мин до шока, удлиняет агональный период с 2 до 5 мин [8]. Известно также, что ацетилхолин может непосредственно стимулировать n-AchR В-лимфоцитов, приводя к снижению их функциональной активности [42]. Подтверждается это тем, что введение ганглиоблокатора периферического действия гексаметония приводит к усилению шоковой реакции [5]. Кроме того, показано, что совместное введение на патохимической стадии метацина и белков плазмы крови альбумина, С-реактивного белка (CRP), иммуноглобулина G (IgG) изменяет эффекты метацина и белков плазмы крови. Антианафилактической активностью, сопоставимой с таковой у метацина с неостигмином, обладает комбинация метацина с IgG, но не комбинация препарата с альбумином или с CRP [8]. Известно, что увеличение концентрации IgG на патохимической стадии анафилактического шока приводит к образованию на тучных клетках и базофилах комплексов IgG с Fc γ -рецепторами, препятствующих дегрануляции клеток [45].

Можно предположить, что иммунные механизмы, связанные с влиянием IgG на анафилаксию, вносят вклад в усиление бронхолитического действия метацина и, напротив, альбумин и CRP, неспецифически связывая препарат, нивелируют таким образом эффекты антагониста m-AchR и антианафилатогенные функции этих белков. Увеличение концентрации альбуми-

на или CRP перед манифестацией патохимической стадии анафилактического шока существенно снижает интенсивность его проявления [8]. Возможно, антианафилактогенные эффекты, в частности, CRP могут быть вызваны его взаимодействием с ацетилхолином, индуцированным нормальной лошадиной сывороткой. Косвенно это подтверждается данными, из которых следует, что введение смеси ацетилхолина с CRP “отменяет” кардиотропные эффекты ацетилхолина [2]. Не исключено, что эти белки, выполняя транспортные и связывающие функции, могут являться аллостерическими модификаторами m-AchR. Известно, что ряд положительно заряженных белков, богатых остатками лизина и аргинина, являются аллостерическими антагонистами m₂-AchR [29], локализованных на пресинаптической мембране холинергического синапса, активация которых предупреждает выброс ацетилхолина из окончаний *nervus vagus* [14, 21]. Возможность взаимодействия m-AchR с молекулами, несущими положительный заряд, связана с наличием значительного количества консервативных отрицательно заряженных остатков аспарагиновой кислоты в их первичной структуре, которые участвуют в связывании классических агонистов и антагонистов m-AchR [20].

Таким образом, модуляция m-AchR с помощью агонистов и антагонистов центрального и периферического действия, а также аллостерических модификаторов открывает возможности регуляции холинергической передачи через волокна *nervus vagus*.

Противовоспалительные холинергические механизмы, связанные со стабилизацией клеток воспаления (тучные клетки, базофилы) неизвестны, хотя ингибиторные m₁-AchR идентифицированы на тучных клетках легких человека [41]. Однако в этой же работе авторы показали отсутствие подобного ингибиторного контроля тучных клеток трахеи крыс. Авторы полагают, что эти различия могут объясняться существованием различных субпопуляций тучных клеток и их видоспецифическими особенностями.

Известно, что цитокиновый профиль существенно изменяется при анафилактическом шоке. На стадии сенсibilизации и патохимической стадии анафилаксии ключевую роль играют цитокины IL-4 и IL-13. Усиление продукции IL-4 приводит к увеличению числа тучных клеток и значительному повышению чувствительности эндотелиальных клеток к действию вазоактивных медиаторов, включая гистамин, серотонин (5-НТ), фактор активации тромбоцитов и лейкотриены [19]. Бронхоконстрикторный эффект 5-НТ, связанный с его прямым стимулирующим действием на 5-НТ_{2A}-рецепторы гладкомышечных клеток бронхов у мышей, находится под ингибиторным контролем кортикостерона, влияющего на функции полиспецифического транспортера органических катионов OCT3 [18]. Вне поля зрения остался нейромедиаторный ответ лимфоидных органов, в частности, 5-НТ-ответ, инициированный холинергическими препаратами, хотя изве-

стно, что 5-НТ является аллостерическим модификатором n-AchR и что ацетилхолин регулирует уровень 5-НТ [23]. Собственные данные показывают, что эффективная защита от анафилактического шока (метацин+неостигмин или метацин+IgG) приближает концентрацию 5-НТ в лимфоидных органах (тимус, селезенка, мезентеральные лимфатические узлы) к базальному уровню, в отличие от свинок, не получавших препараты и переживших шок (контроль). У животных в группе контроля наблюдается выраженное увеличение концентрации 5-НТ в лимфатических узлах и, напротив, снижение 5-НТ в тимусе и селезенке [35]. По-видимому, холинергические препараты, увеличивающие концентрацию эндогенного ацетилхолина, приводят к тому, что в ответе тимуса и селезенки доминируют эффекты ненейронального Ach, а в лимфатических узлах — эффекты 5-НТ. Остается неизвестным, происходит ли синтез и накопление 5-НТ в нервных волокнах, иннервирующих лимфоидные органы, или 5-НТ имеет паракринное происхождение. Анатомическая близость разных нейромедиаторных систем в органе позволяет потенциальным “неканоническим” лигандам путем диффузии достигать эффективных концентраций в области рецепторов-мишеней.

В отличие от патохимической стадии, эксперименты, связанные с десенсibilизацией морских свинок на иммунологической стадии анафилактического шока (введение препаратов вместе с сенсibilизирующей дозой лошадиной сыворотки), показали, что увеличение концентрации CRP или IgG, но не альбумина и метацина в эти сроки приводит к снижению интенсивности шока [35]. Известно, что альбумин и CRP обладают неспецифической [26] и разной степенью эстеразной активности [2, 33]. Разные эффекты влияния альбумина и CRP на сенсibilизирующий агент (нормальная лошадиная сыворотка) требуют дальнейшего изучения. Эффект IgG при анафилактическом шоке связывают с защитной функцией [45]. Неэффективность метацина на иммунологической стадии шока, возможно, вызвана тем, что препарат, помимо непосредственной блокады m-AchR, существенно стимулирует антителогенез [7], что не исключает в отсроченных эффектах метацина действия его метаболитов холина и ацетата, образующихся через 40 – 60 мин после введения препарата [11]. Можно предположить, что эффекты “неканонического” лиганда m- и n-AchR холина [43, 47] проявлялись в том, что он, стимулируя антителогенез, таким образом усиливал анафилаксию, удлиняя у морских свинок агональный период до 15 мин, в контроле — 2 мин [5]. Очевидно, холин играет не менее важную роль в активации разных подтипов m- и n-AchR, чем ацетилхолин, выделенный из нервных и “ненервных” структур. Вместе с тем стимуляция В-лимфоцитов в зависимости от сроков введения стимулятора может иметь важное клиническое значение [3]. На модели гипоксической гипоксии показано, что применение стимулятора В-лимфоцитов в

разные сроки (за 1, 5, 14, 21 и 28 суток), а антигипоксанта за 30 мин до гипоксии приводит к неодинаковым результатам. Существенное удлинение продолжительности жизни мышей наблюдается при введении стимулятора В-лимфоцитов за 14 суток, а антигипоксанта — за 30 мин до гипоксии [4]. Применение антагониста m-AchR метацина, как и стимулятора В-лимфоцитов, за 14 суток до воздействия водоиммерсионного стресса на крыс (максимальное увеличение антителогенеза, вызванное метацином) также свидетельствовало, что это является эффективным приемом предупреждения образования “стрессовых язв” в желудке животных [6, 7, 10].

Таким образом, установление закономерностей действия веществ, обладающих лигандной активностью в отношении холинорецепторов разных подтипов, позволит эффективно использовать возможности модуляции холинергических структур разных уровней организации, являющихся звеньями патогенеза различных заболеваний, включая воспаление и реакции гиперчувствительности. Можно говорить не только о нервной регуляторной сети в структуре органа, но и о химической системе регуляции, представленной веществами, выступающими одновременно в качестве нейромедиаторов и нейромодуляторов, формирующих единый уровень нейрогуморального контроля функций органа.

ЛИТЕРАТУРА

- А. Л. Костюченко, *Хирургические инфекции: руководство*, Санкт-Петербург (2003), сс. 114 – 130.
- П. Г. Назаров, И. Б. Крылова Н. Р. Евдокимова и др., *Цитокины и воспаление*, **5**(4), 32 – 35 (2006).
- Г. И. Нежинская, Н. С. Сапронов, *Пат. физиол.*, № 3, 22 – 25 (2002).
- Г. И. Нежинская, П. Г. Назаров, Н. Н. Петрова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(6), 42 – 44 (2003).
- Г. И. Нежинская, П. Г. Назаров, Н. Р. Евдокимова и др., *Цитокины и воспаление*, **3**(1), 44 – 48 (2004).
- Г. И. Нежинская, П. Г. Назаров, Н. Н. Петрова и др., *Рос. физиол. журн.*, **90**(8), 128 – 129 (2004).
- Г. И. Нежинская, П. Г. Назаров, Н. С. Сапронов, *Мед. иммунология*, **7**(2 – 3), 118 – 119 (2005).
- Г. И. Нежинская, Н. А. Лосев, П. Г. Назаров и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(4), 49 – 52 (2005).
- Г. И. Нежинская, Н. А. Лосев, Н. С. Сапронов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(6), 63 – 67 (2006).
- Г. И. Нежинская, Н. Н. Петрова, *Цитокины и воспаление*, **5**(1) 34 – 36 (2006).
- Е. Н. Степанова, Г. И. Нежинская, В. Н. Куклин и др., *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции*, вып. 61, Пятигорск (2006), сс. 386 – 388.
- Д. А. Харкевич, *Фармакология*, ГЭОТАР, Медицина, Москва (2003).
- Р. J. Barnes, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **1**, 217 – 222 (2001).
- К. Е. Belmonte, *Proc. Am. Thorac. Soc.*, **2**, 297 – 304 (2005).
- T. R. Bernik, S. G. Friedman, M. Ochani, et al., *J. Exp. Med.*, **195**, 781 – 789 (2002).
- L. V. Borovikova, S. Ivanova, M. Zhang, et al., *Nature*, **405**, 458 – 461 (2000).
- I. J. Elenkov, R. L. Wilder, G. P. Chrousos, et al., *Pharmacol. Rev.*, **52**, 595 – 638 (2000).
- S. Y. Eum, X. Norel, J. Lefort, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 312 – 316 (1999).
- F. D. Finkelman, M. E. Rothenberg, E. B. Brandt, et al., *J. Allergy Clin. Immunol.*, **115**, 449 – 457 (2005).
- C. M. Fraser, C.-D. Wang, D. A. Robinson, et al., *Mol. Pharmacol.*, **36**, 840 – 847 (1989).
- A. D. Fryer and J. MacLagan, *Br. J. Pharmacol.*, **83**, 973 – 978 (1984).
- A. D. Fryer and D. B. Jacoby, *J. Respir. Crit. Care Med.*, **158**, 154 – 160 (1998).
- J. Garcia-Colunga and R. Mileli, *Exp. Physiol.*, **84**, 847 – 864 (1999).
- M. S. George, H. A. Sackeim, A. Rush, et al., *Biol. Psychiatry*, **47**(4), 287 – 95 (2000).
- S. A. Grando, D. A. Kist, M. Qi, et al., *J. Invest. Dermatol.*, **101**, 32 – 36 (1993).
- U. K. Hansen, V. Chuang, and M. Otagiri, *Biol. Pharmaceutical Bull.*, **25**(6), 695 – 704 (2002).
- G. Hasko and C. Szabo, *Biochem. Pharmacol.*, **56**, 1079 – 1087 (1998).
- D. L. Hepner and M. Castells, *Anesth. Analg.*, **97**, 1381 – 1395 (2003).
- J. Hu, S.-Z. Wang, C. Forray, et al., *Mol. Pharmacol.*, **42**, 311 – 324 (1992).
- D. B. Jacoby and A. D. Fryer, *Life Sci.*, **68**, 2565 – 2572 (2001).
- K. Kawashima and T. Fujii, *Life Sci.*, **74**, 6675 – 6696 (2003).
- I. Kawikova, V. Paliwal, M. Szczepanik, et al., *Immunology*, **113**(2), 234 – 45 (2004).
- B. M. Liederer and R. T. Borchardt, *J. Pharmaceutical Sci.*, **95**, 1177 – 1195 (2006).
- M. G. McHeyzer-Williams, *Curr. Opin. Immunol.*, **15**, 354 – 381 (2003).
- G. I. Nezhinskaya, A. L. Vladyskin, and N. S. Sapronov, *Life Sci.*, **80**, 2342 – 2346 (2007).
- V. A. Pavlov, H. Wang, C. J. Czura, et al., *Mol. Med.*, **9**, 125 – 134 (2003).
- V. A. Pavlov and K. J. Tracey, *Cell. Mol. Life Sci.*, **61**, 2322 – 2331 (2004).
- V. A. Pavlov and K. J. Tracey, *Brain, Behavior, Immunity*, **19**, 493 – 499 (2005).
- G. Ramsay, H. Gerlach, M. M. Levy, et al., *Crit. Care Med.*, **31**, 300 – 305 (2003).
- R. R. Reid, A. P. Prodeus, W. Khan, et al., *J. Immunology*, **159**, 970 – 975 (1997).
- T. Reinheimer, T. Möhlig, S. Zimmermann, et al., *J. Respir. Crit. Care Med.*, **162**, 534 – 538 (2000).
- K. Z. Sato, T. Fujii, and I. Watanabe, *Neurosci. Lett.*, **266**(1), 17 – 20 (1999).
- F. Sgard, E. Charpentier, S. Bertrand, et al. *Mol. Pharmacol.*, **61**, 150 – 159 (2002).
- M. V. Skok, R. Grailhe, F. Agenes, et al., *J. Neuroimmunology*, **171**, 86 – 98 (2006).
- R. T. Strait, S. C. Morris, and F. D. Finkelman, *J. Clin. Invest.*, **116**, 833 – 841 (2006).
- K. J. Tracey, *Nature*, **420**, 853 – 859 (2002).
- M. Verbitsky, C. V. Rothlin, E. Katz, et al., *Neuropharmacology*, **39**, 2515 – 2524 (2000).
- H. Wang, H. Liao, M. Ochani, et al., *Nat. Med.*, **10**(11), 1216 – 1221 (2004).
- I. Wessler, H. Kilbinger, F. Bittinger, et al., *Life Sci.*, **72**, 2055 – 2061 (2003).

MODULATION OF THE CHOLINERGIC SYSTEM DURING INFLAMMATION

G. I. Nezhinskaya, A. L. Vladykin, and N. S. Sapronov

Department of Neuropharmacology, Institute for Experimental Medicine, Russian Academy of Medical Sciences,
ul. Akademika Pavlova 12, St. Petersburg, 197376, Russia

This review describes the effects of realization of the central and peripheral “cholinergic antiinflammatory pathway” in a model of endotoxic and anaphylactic shock. Under endotoxic shock conditions, a pharmacological correction by means of the central m-cholinomimetic action (electrical stimulation of the distal ends of nervus vagus after bilateral cervical vagotomy, surgical implantation of the stimulant device, activation of efferent vagal neurons by means of muscarinic agonist) is directed toward the elimination of LPS-induced hypotension. During the anaphylaxis, peripheral effects of the cholinergic system induced by blocking m-AChR on the target cells (neuronal and non-neuronal lung cells) and acetylcholinesterase inhibition are related to suppression of the bronchoconstrictor response. The role of immune system in the pathogenesis of endotoxic shock is associated with the production of proinflammatory cytokines by macrophages, increase in IgM concentration, and complement activation, while the role in the pathogenesis of anaphylactic shock is associated with IgE, IgG1 augmentation. Effects of B cell stimulation may be important in hypoxia and in the prophylaxis of stress ulcers and other diseases. Plasma proteins can influence the effects of the muscarinic antagonist methacine: IgG enhance its action while albumin and CRP abolish it.