

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ ИННОВАЦИОННОГО АНТИКОНВУЛЬСАНТА МЕТА-ХЛОРБЕНЗГИДРИЛМОЧЕВИНЫ (м-хБГМ) В НЕЙРОИММУНОЛОГИИ ЗАВИСИМОСТИ

© 2019 г. Т. В. Шушпанова<sup>1\*</sup>, Т. П. Новожеева<sup>1</sup>, Т. В. Перевозчикова<sup>2</sup>,  
О. В. Шушпанова<sup>3</sup>, Е. М. Князева<sup>4</sup>

\*E-mail: mental@tnimc.ru

<sup>1</sup>НИИ психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук», Томск, Россия

<sup>2</sup>ФГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет министерства  
здравоохранения России», Томск, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический  
университет», Томск, Россия

Поступила: 17.03.2019. Принята: 04.04.2019

Метаболиты антиконвульсанта м-хБГМ в процессе детоксикации на цитохроме Р-450 конъюгируют с эндогенными макромолекулами и образуют полноценный стимул для иммунной системы. Специфическая активация происходит к моменту снижения активности микросомальных монооксигеназ печени; такая функция защиты является полноценной при поддержании «иммунохимического гомеостаза» в организме.

**Ключевые слова:** цитохром Р-450, иммуно-химический гомеостаз, иммунитет

DOI: 10.31857/S102872210007009-4

**Адрес:** 634009 Томск, пер. Кооперативный, д. 5, ФГБНУ «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт психического здоровья, лаборатория клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Шушпанова Тамара Владимировна. Тел./факс: +7(3822) 723209, +7923 440 33 20 (моб.).

**E-mail:** mental@tnimc.ru

**Авторы:**

**Шушпанова Т. В.**, к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Новожеева Т. П.**, д. б. н., старший научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, Научно-исследовательский институт психического здоровья «Томский научный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия;

**Перевозчикова Т. В.**, к. м. н., сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский институт», Томск, Россия;

**Шушпанова О. В.**, научный сотрудник отдела по изучению проблем детской психиатрии, «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

**Князева Е. М.**, к. х. н., школа базовой инженерной подготовки, «Томский политехнический университет», Томск, Россия.

### АКТУАЛЬНОСТЬ

Современная концепция «иммунохимического гомеостаза» рассматривает иммунную и монооксигеназную системы как единую систему распознавания и элиминации чужеродных высоко- и низкомолекулярных соединений, обеспечивающую функциональное взаимодействие двух систем – внутриклеточной монооксигеназной системой детоксикации – семейством цитохрома Р450 и иммунной системой и их взаиморегуляцией. Механизм взаимодействий этих систем не выяснен, особенно при длительном введении ксенобиотиков, в том числе лекарств. Характерной особенностью антиконвульсантов является длительное их применение в терапии пациентов с пароксизмальными расстройствами, эпилепсией, алкоголизмом, нейродегенератив-

ными заболеваниями, расстройствами аутистического спектра и другими. При длительном воздействии ксенобиотиков отмечена значительная роль монооксигеназной системы цитохрома P450 и клеток-киллеров в поддержании химического гомеостаза организма. Кроме того, регуляторный митохондриальный периферический бензодиазепиновый рецептор – ПБР – транспортный белок (TPSO), участвующий во многих клеточных процессах, тесно связан с основными ферментами стероидогенеза, включая P450scs [1]. ПБР является основой митохондриальной Ca<sub>2</sub>-индуцируемой порой, пропускающей холестерин и другие молекулы в митохондрии. ПБР рассматривают в качестве терапевтической мишени, вовлеченной в процесс развития различных патологий [1, 2]. Это связано с нарушением его биологических функций: регуляции пролиферации, дифференциации и апоптоза клеток; транспорта холестерина и стероидогенеза, биосинтеза гемма и транспорта порфирина. TPSO является участником иммунного ответа, присутствует в большинстве клеток иммунной и нейроиммунной систем. Иммуномодулирующее действие данного белка опосредовано через индуцированную стрессорными механизмами иммунодепрессию или апоптоз иммунных клеток, значима роль стероидных гормонов в воспалительной реакции и пост-стрессорной адаптации организма. Система цитохрома P450 является метаболической и адаптационной системой, метаболизирует соединения чужеродной и эндогенной природы, взаимодействует с иммунной системой организма, так как конъюгированные антигены презентуются В-клеткам и вызывают иммунный ответ [3].

**Целью** данной работы явилось изучение влияния м-хБГМ – индуктора P450-монооксигеназной системы печени на ПБР мозга крыс на экспериментальной модели алкоголизма, особенности В-звена иммунитета и ЕЦТ клеток лимфоидных органов крыс.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар. м-хБГМ вводили в желудок «многопьющим» крысам по условиям эксперимента, как описано ранее [4], в виде взвеси на 1% крахмальной слизи в дозе 100 мг/кг ежедневно в течение 5, 30 и 90 дней. Контрольные животные получали соответствующий объем крахмальной слизи. В конце указанных сроков, через 24 часа после последнего введения препарата,

животных (по 8–9 в каждой группе) забивали декапитацией под легким эфирным наркозом для проведения биохимических и иммунологических анализов. Выделение микросомальной фракции печени, определение содержания гемопропротеидов семейства P450 и белка проводили по ранее описанным методам [3]. Свойства ПБР мозга крысы исследовали методом связывания [<sup>3</sup>H]Ro5-4864 с мембранами митохондриальной фракции коры мозга крысы [5]. Статистическую обработку данных применяли параметрический метод вариационной статистики (t-критерий Стьюдента) с использованием программы «Statistica 10.0».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам эксперимента на модели хронической алкоголизации крыс линии Вистар и при терапии «многопьющих» животных с использованием м-хБГМ в дозе 100 мг/кг массы тела в течение 14 дней нами было выявлено изменение свойств рецепторов в мозге экспериментальных животных. В коре мозга «предпочитавших» алкоголь крыс аффинность ПБР была достоверно снижена по сравнению с «отвергавшими» алкоголь животными в 1.7–2 раза, что приводило к снижению чувствительности к алкоголю, способствовало развитию толерантности и формированию физической зависимости. Плотность ПБР в коре мозга «предпочитавших» алкоголь крыс была повышена на 150–160%, что отражает нейропластические компенсаторные изменения рецепторов. м-хБГМ эффективно снижала выраженность алкогольной мотивации у «предпочитавших» алкоголь крыс и оказывала модулирующее действие на ПБР мозга «многопьющих» животных, что приводило к повышению нейромедиации ГАМК, вызывало снижение толерантности к алкоголю и уменьшение уровня его потребления [4]. м-хБГМ вызывала тенденцию к снижению плотности ПБР в мозге «многопьющих» крыс. Воздействие этанола вызывало изменение ПБР, локализованных в митохондриальной мембране, преимущественно в глиальных клетках мозга, и обеспечивающих перенос холестерина внутрь митохондрий [1].

Таким образом, ПБР влияют на регуляцию синтеза нейростероидов, являющихся эндогенными модуляторами ГАМКА-рецепторов в ЦНС [1, 2]. Бензодиазепины, анксиолитики, анестетики и алкоголь осуществляют некоторые эффекты через ПБР, регулируя продукцию нейростероидов и их метаболитов, являющихся

критичными компонентами нормальной функции мозга [1, 2]. ПБР опосредованно влияют на ГАМКергическую функцию мозга, реагируя на нейротоксическое воздействие и различные повреждения мозга, стимулируя нейроиммунную систему, локализуясь преимущественно в глиальных клетках мозга [5]. м-ХБГМ, стимулируя экспрессию ПБР в митохондриях в глиальных клетках мозга, сопряженных с P450scs – ферментативной системой, влияя таким образом на нейроиммунную систему мозга, активируя ее, что важно при нейротоксическом влиянии на ЦНС.

Особенности цитохромоксидазной системы P450 печени и В-звена иммунитета и ЕЦТ в лимфоидных органах крыс изучали при различных сроках введения м-ХБГМ. м-ХБГМ, проявляя умеренные индуцирующие свойства в отношении монооксигеназной системы печени, вызывала фазные и разнонаправленные изменения со стороны лимфоидных органов и ЕЦТ иммунокомпетентных клеток. Кратковременное введение м-ХБГМ в течение 5-ти суток, вызывало снижение клеток в вилочковой железе, в основном за счет уменьшения количества малых лимфоцитов, в то же время вызывало умеренное снижение количества клеток в перитонеальном экссудате крыс, преимущественно за счет средних и больших лимфоцитов. После кратковременного снижения количества тимоцитов через 5 суток клеточный состав тимуса нормализовался через 1–3 мес. введения. Длительное введение м-ХБГМ вызывало обеднение клеточного состава лимфоидных органов, снижению ЕЦТ клеток селезенки и перитонеального экссудата, однако эти изменения были менее выраженными, по сравнению с препаратами барбитурового ряда. Под влиянием м-ХБГМ на фоне активации ферментов монооксигеназной системы печени наблюдалась тенденция к снижению общего числа лейкоцитов периферической крови, преимущественно за счет нейтрофилов и лимфоцитов. В отличие от барбитуратов лейкопения не прогрессировала с увеличением длительности введения препарата. Уровень неспецифических АОК селезенки существенно не изменялся при кратковременном введении м-хБГМ в течение 5-ти суток. При введении м-хБГМ в течение 30-ти дней уровень специфических АОК селезенки возрастал. Образовавшиеся антитела связывают и нейтрализуют м-хБГМ и его промежуточные метаболиты. При активации иммунной системы происходит обратная регуляция выработки ферментов системы цитохрома, так как при помощи антител концентрация низкомолекулярных мишеней резко сокращается. Таким образом, система цитохрома и иммунная система регулируют друг друга.

Полученные нами данные свидетельствуют о формировании специфического иммунного ответа на введение м-хБГМ. В процессе детоксикации на цитохроме P-450 метаболиты м-хБГМ конъюгируют с эндогенными макромолекулами и образуют полноценный стимул для иммунной системы. Специфическая активация ее происходит к моменту снижения активности микросомальных монооксигеназ печени – через месяц введения препарата животным. Такая передача функции защиты от одной системы к другой является функциональной и полноценной при поддержании «иммунохимического гомеостаза» в организме.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Lacapere J. J., Papadopolus V.* Peripheral-type benzodiazepine receptor: a structural and functional cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis. *Steroid*. 2003, 66 (7–8), 569–585.
2. *Шушпанова Т. В., Новожеева Т. П., Мандель А. И., Бохан Н. А.* Бензодиазепиновые рецепторы тромбоцитов и нейроактивные стероидные гормоны в крови человека – потенциальные мишени при алкогольной аддикции. *Академический журнал Западной Сибири*. 2014, 10, 3(52), 73–75. [*Shushpanova T. V., Novozheeva T. P., Mandel A. I., Bokhan N. A.* Benzodiazepine platelet receptors and neuroactive steroid hormones in human blood are potential targets for alcohol addiction. *Academic Journal of Western Siberia*. 2014, 10, 3 (52), 73–75].
3. *Саратиков А. С., Новожеева Т. П.* Химико-фармацевтический журнал. 1983, 12, 1436–1438. [*Saratikov A. S., Novozheeva T. P.* *Chemical and Pharmaceutical Journal*. 1983, 12, 1436–1438].
4. *Шушпанова Т. В., Новожеева Т. П., Семке В. Я., Бохан Н. А., Саратиков А. С., Канов Е. В., Худoley В. Н.* Средство, снижающее алкогольную мотивацию. Патент на изобретение RUS2155034 29.11.1999 [*Shushpanova T. V., Novozheeva T. P., Semke V. Ya., Bokhan N. A., Saratikov A. S., Kanov E. V., Khudoley V. N.* The means reducing alcoholic motivation. Patent for invention RUS2155034 11/29/1999].
5. *Шушпанова Т. В., Солонский А. В., Новожеева Т. П., Удут В. В.* Влияние антиконвульсанта мета-хлорбензгидрилмочевины (м-хБГМ) на бензодиазепиновую рецепторную систему мозга крыс при экспериментальном алкоголизме. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013, 156(12), 779–785. [*Shushpanova T. V., Solonksy A. V., Novozheeva T. P., Udut V. V.* The effect of the anticonvulsant meta-chloro-benzhydrylurea (m-CL-BHU) on the benzodiazepine receptor system of the rat brain in experimental alcoholism. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2013, 156 (12), 779–785].

**MOLECULAR TARGETS OF THE ACTIONS OF THE INNOVATIVE  
ANTICONVULSANT META-CHLORO-BENZHYDRYLUREA (M-CL-BHU)  
IN NEUROIMMUNOLOGY OF DEPENDENCE**

© 2019 T. V. Shushpanova<sup>1\*</sup>, T. P. Novozheeva<sup>1</sup>, T. V. Perevozchikova<sup>2</sup>,  
O. V. Shushpanova<sup>3</sup>, E. M. Knyazeva<sup>4</sup>

\*E-mail: mental@tnimc.ru

<sup>1</sup>Mental Health Research Institute «Tomsk Scientific Research Medical Center  
of Russian Academy of Sciences», Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Federal State Educational Institution «Siberian State Medical University»,  
Tomsk, Russia

<sup>3</sup>Federal State Budget Scientific Institution «Scientific Center of Mental Health», Moscow, Russia

<sup>4</sup>Federal State Autonomous Educational Institution «Tomsk Politechni University», Tomsk, Russia.

**Received:** 17.03.2019. **Accepted:** 04.04.2019

Metabolites of the anticonvulsant m-CL-BHU in the process of detoxification on cytochrome P-450 are conjugated with endogenous macromolecules and form a complete stimulus for the immune system. Specific activation occurs at the time of the decrease in the activity of liver microsomal monooxygenases. This protection function is valuable in maintaining “immuno-chemical homeostasis” in the body.

*Key words:* cytochrome P-450, immuno-chemical homeostasis, immunity

**Authors:**

**Shushpanova T. V.**, ✉ PhD, M.D., Leading Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia.

**E-mail:** mental@tnimc.ru;

**Novozheeva T. P.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Psychoneuroimmunology and Neurobiology of Mental Health Research Institute “Tomsk Scientific Research Medical Center of Russian Academy of Sciences”, Tomsk, Russia;

**Perevozchikova T. V.**, PhD, Researcher at the Central Research Laboratory, “Siberian State Medical University”, Tomsk, Russia;

**Shushpanova O. V.**, Researcher of Children and Adolescent Psychiatry Department, “Scientific Center of Mental Health”, Moscow, Russia;

**Knyazeva E. M.**, PhD, Researcher of Basic Engineering school, “Tomsk Politechni University”, Tomsk, Russia.