

©Коллектив авторов

РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В НЕЙРОИММУНОЛОГИИ АЛКОГОЛИЗМА

М.И. Айрапетов^{1,2}, С.О. Ереско³, А.А. Лебедев¹, Е.Р. Бычков¹, П.Д. Шабанов^{1,4}*

¹Институт экспериментальной медицины,
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; *эл. почта: interleukin1b@gmail.com

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., 2

³Национальный исследовательский университет ИТМО, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр-кт., 49

⁴Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Алкоголизм представляет глобальную социально-значимую проблему, до сих пор оставаясь одной из ведущих причин, приводящих к инвалидности и преждевременной смерти. Одним из основных признаков заболевания является потеря когнитивного контроля над количеством употребляемого алкоголя. Среди механизмов развития этой патологии в последнее время всё большее внимание исследователей привлекают изменения нейроиммунных механизмов, возникающие в мозге при длительной алкоголизации и при её отмене. Употребление этанола приводит к активации нейроиммунной сигнализации в ЦНС посредством многих подтипов toll-подобных рецепторов (toll-like receptors, TLRs), а также к высвобождению их эндогенных агонистов (белок HMGB1, белок S100, белки теплового шока, белки распада внеклеточного матрикса). Активация TLRs запускает внутриклеточные молекулярные каскады реакций, приводящие к усилению экспрессии генов врожденной иммунной системы, в частности провоспалительных цитокинов, вызывая впоследствии развитие стойкого нейровоспалительного процесса в ЦНС, который приводит к массовой гибели нейронов и клеток микроглии в структурах головного мозга, в первую очередь в тех, которые и ассоциированы с развитием патологического влечения к алкоголю. Кроме того, есть данные о том, что некоторые подтипы TLRs (TLR3, TLR4) способны образовывать гетеродимеры с рецепторами нейропептидов, тем самым, возможно, выполняя и иные роли в ЦНС, помимо участия в активации системы врожденного иммунитета.

Ключевые слова: алкоголизм; мозг; нейровоспаление; toll-подобные рецепторы; нейроиммунная сигнализация

DOI: 10.18097/PBMC20206603208

ВВЕДЕНИЕ

Патологическое влияние на нейроиммунные механизмы в головном мозге, вызванное длительным употреблением этанола, вызывает повышенный интерес у исследователей в последние два десятилетия. Одним из первых исследований в этой области является работа Lewohl и соавт. в 2000 г. [1]. Используя технологию ДНК-микрочипирования, авторы обнаружили неожиданное изобилие изменений в генах врожденной иммунной системы на посмертных образцах коры головного мозга людей, страдающих алкоголизмом [1]. Первые же экспериментальные данные, показывающие, что длительное употребление этанола может активировать врожденную иммунную систему в ЦНС, способствуя выработке провоспалительных цитокинов и гибели нервных клеток, были опубликованы в работе Valles и соавт. в 2004 г. [2]. Эти результаты были неоднократно подтверждены и расширены в последующих исследованиях [3-8].

Нарушения в согласованной работе механизмов на клеточном и молекулярном уровнях в различных структурах головного мозга в результате длительного употребления этанола приводят к серьезным последствиям, в частности, к эмоциональным расстройствам (повышенный уровень беспокойства и тревожности, ухудшение внимания, агрессия) и, что самое неблагоприятное, к потере когнитивного

контроля над количеством употребляемого алкоголя. Эти признаки и служат критериями перехода от злоупотребления алкогольными напитками (пьянство) к формированию сложного и неизлечимого психического заболевания — алкогольной зависимости [9-14].

Длительное употребление этанола приводит к активации микроглиальных клеток в головном мозге [15]. Активации микроглии характеризуется небольшими морфологическими изменениями и повышенной экспрессией сигнальных молекул, участвующих в иммунном ответе (компоненты главного комплекса гистосовместимости, toll-подобные рецепторы (TLRs), про-/противовоспалительные цитокины) [16]. В головном мозге клетки микроглии, являясь резидентными макрофагами в ЦНС, экспрессируют большое разнообразие рецепторов врожденной иммунной системы, в частности, и суперсемейство TLRs. Последние играют важную роль в запуске воспалительного ответа в ответ на различные патогены [17, 18].

Сигналом для активации TLRs служат экзогенные или PAMPs (pathogen-associated molecular pattern; молекулярные фрагменты, связанные с патогенами), а также собственные эндогенные или DAMPs (damage-associated molecular-pattern molecules; молекулярные фрагменты, связанные с повреждением) лиганды, уровень которых повышается в мозге при длительном употреблении этанола [4].

В экспериментах на животных было показано, что употребление этанола приводит к повышенной экспрессии и внеклеточному высвобождению эндогенного лиганда — белка HMGB1 (High-mobility group protein B1) [4]. Взаимодействие лиганда с TLRs служит сигналом для запуска сложных внутриклеточных каскадов реакций, активирующих транскрипционные факторы NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), AP-1 (activator protein 1) и IRFs (interferon regulatory factors). Это приводит к последующему усилению экспрессии генов целого ряда провоспалительных сигнальных молекул (провоспалительные цитокины, оксидазы, синтаза оксида азота, протеазы, компоненты главного комплекса гистосовместимости) [3-7, 18-21]. Важно отметить то, что повышение уровня провоспалительных цитокинов коррелирует с повышением уровня экспрессии отдельных подтипов TLRs в ЦНС (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7) [3-7]. Эти изменения служат причиной развития продолжительного нейротоксического эффекта, что в дальнейшем приводит к протеасомной деградации белков, демиелинизации аксонов, разрушению синаптических окончаний за счёт повреждения синаптических белков и, в конечном счёте, к гибели множества клеток в ЦНС. Нейродегенеративные изменения во всех отделах головного мозга у больных алкоголизмом являются следствием нейротоксического действия этанола на головной мозг [3, 22-25].

Помимо микроглии, нейроны и клетки нейроглии способны реагировать на провоспалительные факторы иммунной системы, экспрессируя много различных цитокиновых рецепторов, таких как TNFαR, IL-1βR, IL-6R (CD126), IFNγR, IFNαR. Белок фракталин (он же CX3CL), выделяемый нервными клетками головного мозга, участвует в регуляции процесса миграции микроглиальных клеток в ЦНС [18, 26]. Таким образом, высвобождение провоспалительных цитокинов может проводить к активации всё большего числа клеток микроглии, а также астроцитов, олигодендроцитов и нейронов, усиливая механизмы нейроиммунной сигнализации [2, 27-29].

1. TOLL-ПОДОБНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ (TLRs)

Последнее десятилетие ознаменовалось открытием большого количества образраспознающих рецепторов (PRR, pattern recognition receptors) и интенсивным их изучением. Они выявлены у всех многоклеточных организмов, начиная от беспозвоночных (например, губки) и заканчивая млекопитающими и человеком [18]. На сегодняшний день известно 5 семейств сигнальных PRR: Toll-подобные рецепторы (TLRs), лектиновые рецепторы С-типа, рецепторы-мусорщики, NOD-подобные рецепторы и CARD хеликазы [18]. Все PRR специфически связываются с различными молекулярными структурами микроорганизмов, включая бактерии, грибы, вирусы, одноклеточные простейшие. PRR специфически реагируют и на ряд веществ растительного происхождения и сложные синтетические молекулы. Все эти соединения

служат их экзогенными лигандами. PRR способны специфически реагировать и на ряд веществ собственного организма — эндогенные лиганды [18].

Наиболее хорошо изучено семейство TLRs. У человека обнаружено 10, у мыши 13 представителей данного типа (TLR1-TLR13) [18, 30]. Все TLRs имеют сходное строение и представляют собой интегральные трансмембранные белки, состоящие из 3-х частей, различающихся по своим функциям. Внеклеточная N-концевая область, ответственная за связывание лиганда, имеет 19-25 повторяющихся лейцин-богатых повторов. За ним следует переходный участок, обогащённый цистеином, который отвечает за прикрепление рецептора к белкам мембраны. И, наконец, цитоплазматический участок, представленный TIR-доменом (Toll/IL-1-рецептор), осуществляет взаимодействие между TLRs и адапторными белками, приводя в действие внутриклеточные сигнальные каскады реакций [18] (табл. 1).

В ЦНС экспрессируются все подтипы TLRs и распределены следующим образом: TLR1-TLR9 экспрессируются клетками микроглии, TLR3 и TLR7-9 нейронами, TLR2-3 и TLR9 астроцитами, TLR2-3 олигодендроцитами [17, 31] (рис. 1).

Таблица 1. Адапторные белки TLRs (по данным [43])

Рецептор	Адапторный белок
TLR2/TLR1 (гетеродимер)	Myd88/TIRAP
TLR3	TRIF
TLR4	Myd88/ TIRAP; TRIF/TRAM
TLR2/TLR6 (гетеродимер)	Myd88/ TIRAP
TLR7	Myd88
TLR8	Myd88
TLR9	Myd88
TLR11/TLR12 (гетеродимер)	Myd88
TLR13	Myd88

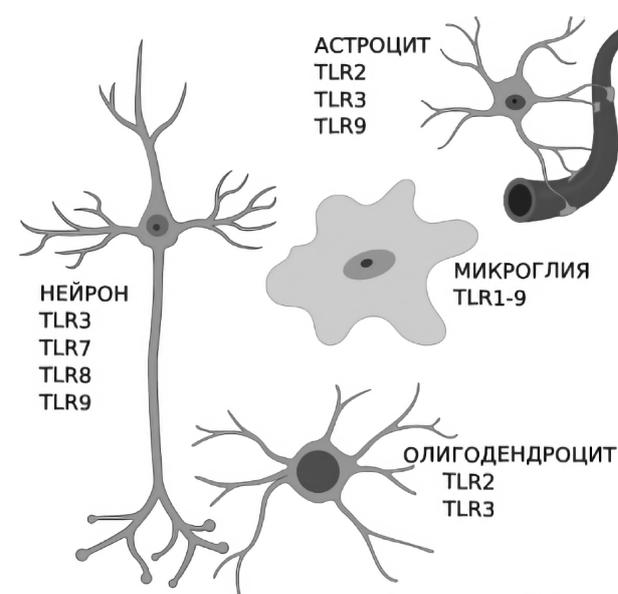


Рисунок 1. Экспрессия TLRs в клетках ЦНС.

РОЛЬ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В НЕЙРОИММУНОЛОГИИ АЛКОГОЛИЗМА

При этом важно отметить, что TLR1-2 и TLR4-6 экспрессируются на поверхности цитоплазматической мембраны, а TLR3 и TLR7-13 экспрессируются на эндосомах внутри клетки [32-33].

2. СИГНАЛЬНЫЕ КАСКАДЫ РЕАКЦИЙ TLRs

Все TLRs функционируют как гомо- или гетеродимеры: TLR2 образует гетеродимеры с TLR1 или TLR6, TLR11 — с TLR12, а TLR3-5, TLR7-9 и TLR13 образуют гомодимеры [44]. После распознавания лиганда (табл. 2) происходит димеризация TLR с образованием гетеродимера или гомодимера, после чего происходят конформационные изменения рецептора, необходимые для взаимодействия цитоплазматического TIR-домена с внутриклеточными адапторными белками и последующей активации каскада реакций внутриклеточной сигнализации [44].

Самый распространённый случай, когда TIR-домен рецептора TLR связывается с адапторным белком MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88) (рис. 2). После этого MyD88 взаимодействует с киназами семейства IRAK (IL-1 receptor associated kinase); семейство состоит из нескольких ферментов: IRAK1-4 и IRAK-M. Вначале активируется киназа IRAK4, затем — IRAK1. Активация последней приводит к её взаимодействию с фактором TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6). Этот фактор может запускать два пути передачи сигнала: 1) активация фактора транскрипции AP-1 посредством MAP-киназ (mitogen-activated protein kinase), JNK-киназ (c-Jun N-terminal kinases) и p38;

2) активация комплекса TAK1/TAB и IKK (I κ B kinase). После активации IKK происходит фосфорилирование и деградация ингибиторного белка I κ B, что приводит к освобождению димера NF- κ B и его последующей транслокации в ядро, где NF- κ B связывается с промоторными участками генов, активирующих и регулирующих развитие воспалительной реакции. Такой внутриклеточный сигнальный механизм функционирует при активации почти всех известных TLRs, за исключением TLR3. Это указывает на то, что разные патогены, активирующие различные TLRs, иницируют, в принципе, единый универсальный путь активации воспалительной реакции [18]. TIR-домен TLR3 и TLR4 может взаимодействовать с адапторным белком TRIF (TIR-domain containing adaptor inducing IFN β) [45]. Белок TRIF активирует TRAF6 и TRAF3 (TNF receptor-associated factor 3). В результате этого происходит активация внутриклеточного фактора TBK1 (TANK-binding kinase 1) и затем IRF3 (Interferon regulatory factor 3). Активированный IRF3 запускает экспрессию генов IFN β и IFN α , необходимых для развития противовирусного ответа [18].

Помимо перечисленных, идентифицирован ряд и других адапторных белков, необходимых для проведения сигнала от определённых TLR. Белок TIRAP (TIR-domain-containing adaptor protein) участвует вместе с MyD88 в проведении сигнала от TLR2 и TLR4, но не от других TLR [46]. Адапторный белок TRAM (TRIF-related adaptor molecule), взаимодействующий с TRIF, используется для проведения сигнала от TLR4 [47].

Таблица 2. Лиганды TLRs (по данным [39-43])

Рецептор	Экзогенные лиганды	Эндогенные лиганды
TLR1	Триацетилированные пептиды	Неизвестны
TLR2	Зимозан, диацетилированные пептиды, триацетилированные пептиды, липотейхоевая кислота	rHSP70, gp96, HMGB1, мочевая кислота, гиалуроновая кислота, α -синуклеин
TLR3	Двухцепочечные РНК (dsRNA), поли (I:C)	мРНК, статмин
TLR4	Липополисахарид (ЛПС)	HMGB1, HSP60, HSP70, HSP72, гиалуроновая кислота, фибриноген, белок S100, мочевая кислота, гепарансульфатные фрагменты, тенасцин-с
TLR5	Флагеллин	Неизвестны
TLR6	Зимозан, диацетилированные пептиды, триацетилированные пептиды, липотейхоевая кислота, липоарабиноман	Неизвестны
TLR7	Имиквимод, гардиквимод, одноцепочечные РНК (ssRNA), miRNAs let-7, microRNA-21, имидазохинолин, локсорибин, бропиримин	Неизвестны
TLR8	Одноцепочечные РНК (ssRNA), ssRNA40/Lyovec, гардиквимод	Неизвестны
TLR9	ДНК с неметилированными олигодезоксинуклеотидами CpG	Комплексы хроматин-IgG
TLR10*	Двухцепочечные РНК (dsRNA)	Неизвестны
TLR11**	Профилин и профилин-подобные белки	Неизвестны
TLR12**	Профилин	Неизвестны
TLR13**	Одноцепочечные РНК (ssRNA)	Неизвестны

Примечание: * — обнаружен только у человека, ** — обнаружен только у мышей.

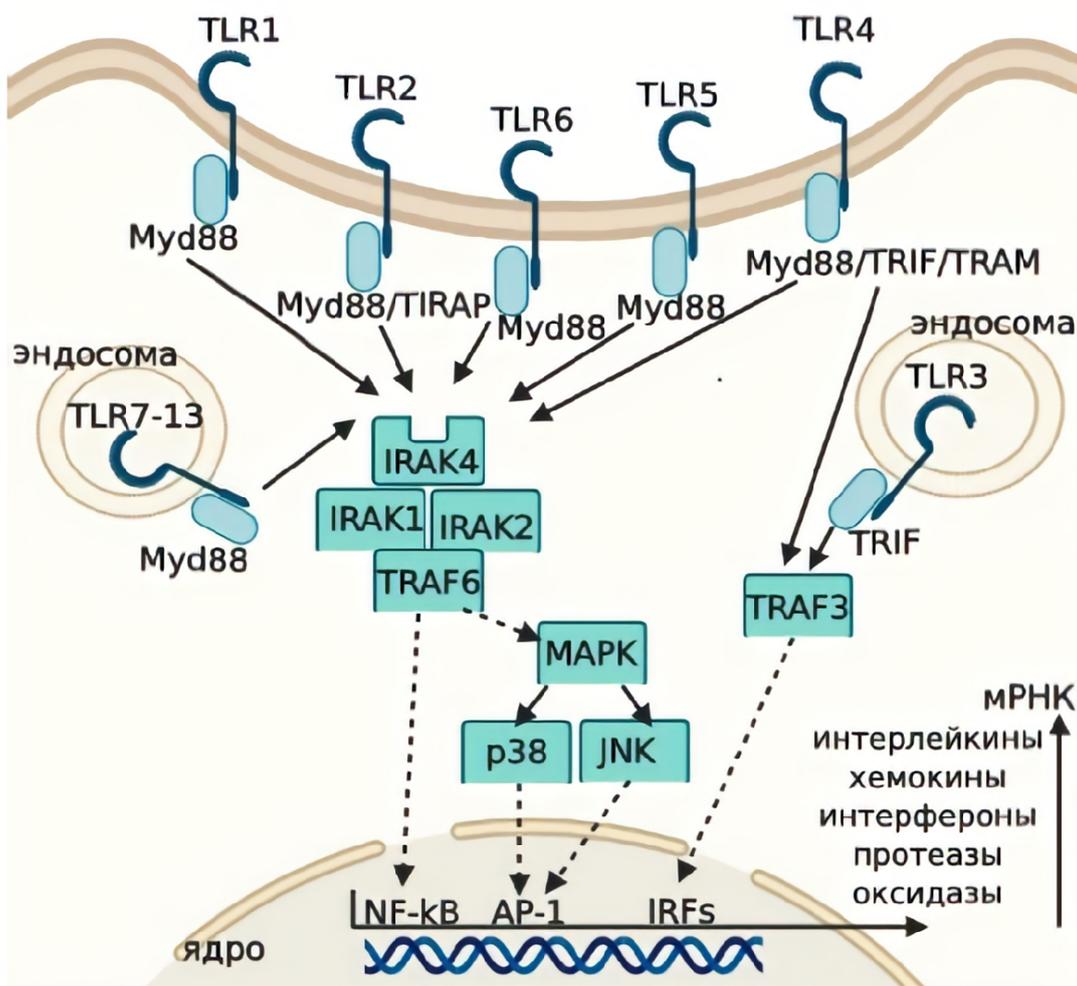


Рисунок 2. Сигнальные каскады, опосредующие эффекты TLRs.

Активация TLRs приводит к запуску нескольких внутриклеточных сигнальных путей. В результате возникают сложные внутриклеточные каскады реакций, которые могут обуславливать как усиление, так и торможение конечного эффекта экспрессии цитокинов. Так, например, активация TLR3 и TLR4 может усилить экспрессию TLR2 на поверхности макрофагов Myd88-независимым способом, тогда как активация TLR7 и TLR9 вызывают его экспрессию Myd88-зависимым способом [48]. Активация TLR4 может положительно регулировать TLR2, TLR4 и TLR9 [47]. Такое регулирование (TLR-TLR) часто приводит к усилению иммунного ответа, привлекая большее количество TLRs, однако начальная стимулирующая доза и время активации второго TLR, участвующего в процессе, могут оказывать существенное влияние на иммунный ответ [18, 48-51]. Помимо этого, разные подтипы TLRs могут совместно формировать синергетический эффект или формировать обратные реакции по отношению к другому TLR. Стимуляция дендритной клетки агонистом TLR2 противодействует экспрессии IL10 и IL12, которая инициируется агонистами TLR3 и TLR4. TLR8 ингибирует TLR7 и TLR9, а TLR9 ингибирует TLR7 в результате прямых или опосредованных взаимодействий между ними [52].

3. РОЛЬ TLRs В НЕЙРОИММУННЫХ МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛИЗМА

Употребление этанола способствует активации системы врожденного иммунитета посредством TLR, что выражается в повышении уровня ряда провоспалительных сигнальных молекул [7]. Среди TLRs в контексте патогенеза алкоголизма в литературе наибольшее внимание уделяется TLR3, TLR4, TLR7 [3-7, 17, 22, 35-38].

Повышенный уровень провоспалительных цитокинов играет важную роль в развитии состояния нейротоксичности с последующей гибелью множества клеток в ЦНС. В то время как микроглия считается основным источником провоспалительных цитокинов в ЦНС, окончательно не выяснено, какую роль играют нейроны в цепи нейроиммунной сигнализации, вызванной этанолом [26]. Активность TLRs зависит от уровня экзогенных и эндогенных лигандов, которыми они активируются. Употребление этанола сопровождается увеличением уровня эндогенных лигандов, таких как HMGB1 [7], белки теплового шока [34], белки распада внеклеточного матрикса [53], различные варианты микро-РНК [39-43]. Эндогенные лиганды высвобождаются в ответ на активацию воспалительного процесса в мозге и в ходе

апоптотических повреждений клеток в ЦНС [3-7]. Экзогенные лиганды и различные цитокины могут транспортироваться с током крови в ЦНС из периферии [6].

4. РОЛЬ TLRs В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛКОГОЛИЗМА

4.1. Роль TLR3 в патогенезе алкоголизма

Повышенный уровень мРНК TLR3 был отмечен в посмертных образцах орбифронтальной коры головного мозга людей, страдавших алкоголизмом [4]. Имеются данные, которые указывают на то, что TLR3-зависимая сигнализация оказывает влияние на уровень добровольного потребления этанола в экспериментах на грызунах [54, 55]. Алкоголизация мышей в течение 10 дней приводила к увеличению уровня мРНК TLR3 в головном мозге мышей, а также к увеличению уровня экспрессии белка TLR3 в орбифронтальной и энторинальной коре [4].

Однократное введение внутрибрюшинно агониста TLR3 — поли (I:C) (поли-инозиновая-полицитидиловая кислота — синтетический аналог двухцепочечной РНК вирусов) — мышам приводило к увеличению уровня добровольного потребления этанола в двухпоилочном тесте (раствор этанола или вода); при этом повышение уровня потребления этанола развивалось в течение нескольких дней [55].

Исследуя последствия применения поли (I:C) на экспрессию генов в прилежащем ядре (nucleus accumbens, NA) мозга крыс, было показано, что активация агонистом TLR3 приводит к увеличению уровня мРНК TLR3, COX2 (cyclooxygenase 2) и генов глутаматергической системы (mGluR2 — metabotropic glutamate receptor 2; mGluR3; GLT1 — glutamate transporter 1), а также гена BDNF (brain-derived neurotrophic factor). При этом увеличение мРНК каждого из этих генов коррелировало с увеличением мРНК TLR3 [56].

Применение поли (I:C) приводило к повышению экспрессии ряда провоспалительных генов (CCL5, CCL2, IL-1b, IL-6 и др.) в префронтальной коре мозга мышей. При этом, когда свободный доступ к этанолу предоставлялся мышам во время пиковой активации провоспалительного ответа, уровень добровольного потребления этанола мышами снижался и не изменялся, когда доступ к этанолу был предоставлен мышам на нисходящем пути активации врожденной иммунной системы. Эти результаты позволяют предположить, что постепенное повышение воспалительного ответа может опосредованно вносить свой вклад в увеличение уровня влечения к алкоголю у мышей. По мнению авторов [55], конкретные пути и баланс между цитокинами могут регулировать уровень тяги к алкоголю.

В модели 10-дневной алкоголизации мышей этанолом однократное введение агониста TLR3 поли (I:C) приводило к увеличению уровня мРНК TRAIL в орбифронтальной и в энторинальной коре головного мозга мышей [57]. На культурах клеток было показано, что добавление этанола вызывает

активацию TLR3, что способствует высвобождению IFN β (interferon-beta) и IFN γ (interferon-gamma) нейронами и астроцитами. При этом была отмечена повышенная активность гена TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) после внесения в культуру клеток поли (I:C). Блокирование гена TRAIL приводило к снижению уровней IFN β и IFN γ как в астроцитах, так и в нейронах. Исследуя же совместное действие этанола и агониста TLR3 (поли (I:C)), было показано увеличение уровней мРНК TNF- α , IL-1 β и IL-6, а также увеличение уровней белков p38 и IRF3 в культурах клеток микроглии и нейронов [57].

В одной из работ было показано, что мРНК TLR3 и компоненты TRIF-зависимого пути были повышены в префронтальной коре мозга мышей через 24 ч после отмены этанола [54]. Экспрессия связанных с TLR3 и компонентов TRIF-зависимого пути увеличилась в прилежащем ядре, но при этом уменьшилась в миндалевидном теле. Кроме того, Amlexanox, ингибитор комплекса IKK ϵ /TBK1, снижает иммунную активацию TRIF-зависимого пути в мозге и уменьшает потребление этанола. Таким образом, было сделано предположение, что TRIF-зависимый путь регулирует уровень потребления этанола [54].

Снижение активности MyD88-зависимого пути коррелирует с уменьшенным потреблением этанола и повышенными уровнями TRIF-зависимого пути. С целью проверки опосредованного действия поли (I:C) через MyD88 использовали самок мышей, нокаутных по гену Myd88, и показали, что введение поли (I:C) не изменяло уровня потребления алкоголя у нокаутных Myd88, что указывает на то, что вызванные поли (I:C) изменения в потреблении алкоголя зависят от MyD88-зависимого пути [55].

Исходя из экспериментальных данных, выполненных на различных модельных объектах, можно сделать вывод о том, что TLR3 играет важную роль в патогенезе алкоголизма, однако точные механизмы TLR3-зависимой сигнализации остаются всё ещё окончательно неустановленными.

4.2. Роль TLR4 в патогенезе алкоголизма

Наибольшее число исследований было посвящено изучению вовлеченности TLR4 в механизмы активации провоспалительной сигнализации в результате потребления этанола [37, 59-61].

Большое количество данных получено на крысах и мышах с применением генетических и фармакологических манипуляций (нокаут TLR4 и применение антагонистов), которые показали, что активность TLR4 не регулирует уровень потребления этанола, но наблюдаются изменения TLR4-опосредованного сигналинга впоследствии употребляемого алкоголя [59-60].

Исследование на мышах показало, что потребление этанола мышами в течение 2 недель привело к активации TLR4-зависимых провоспалительных процессов, которые характеризовались активацией MAP-киназ и NF- κ B с последующим выделением COX-2 (Cyclooxygenase 2), iNOS (Inducible nitric oxide synthase), HMGB1 (high-mobility group protein B1).

Развитие воспалительного процесса на фоне повышенной активности этих провоспалительных сигнальных молекул привело в эксперименте к демиелинизации аксонов и к структурным синаптическим изменениям в результате повреждения белков миелина и синаптических белков, что в последующем сказывалось у мышей на ухудшении когнитивных параметров в тестах распознавания объектов, пассивного избегания и обонятельного поведения [64]. Нокадаун гена *TLR4* сопровождался торможением продукции провоспалительных медиаторов, блокадой активации MAP-киназ и NF-κB путей в астроцитах [65]. На нокаутных по гену *TLR4* мышах было показано, что такие мыши защищены от вызванного длительным потреблением этанола (в течение 5 месяцев) повышения уровня концентрации цитокинов и хемокинов в мозге, тогда как наличие функционально компетентного гена *TLR4* приводило к увеличению концентрации цитокинов (IL-1β, IL-17, TNF-α) и хемокинов (MCP-1, MIP-1α, CX3CL1) в крови и в стриатуме мозга мышей [37].

Было показано, что этанол приводит к накоплению в коре головного мозга полиубиквитинированных форм белков и способствует активации работы иммунопротеасом и аутофаголизосом [46]. При этом, мыши, не имеющие рецепторов TLR4, были и в этом случае защищены от вызванных этанолом подобных изменений [62].

Имеются данные о том, что TLR4/MCP-1-опосредованный сигналинг в миндалевидном теле и вентральной тегментальной области (ventral tegmental area, VTA) делает крыс предрасположенными к повышенному уровню потребления этанола. Такой сигналинг поддерживается повышенной экспрессией кортикотропин-рилизинг фактора (CRF), который способен оказывать обратную регуляцию TLR4 [61]. Кроме того, есть данные, что уровень MCP-1 с одновременным повышением уровня активности микроглии был повышен в VTA, миндалевидном теле, чёрной субстанции и в гиппокампе посмертных образцов мозга людей, страдавших алкоголизмом [66].

Предполагается, что TLR4-MуD88-зависимый сигналинг опосредует острые депрессивные расстройства, которые развиваются впоследствии потребления этанола, а также может быть вовлечён в регуляцию ГАМК-ергической трансмиссии в ЦНС [59]. В одной из работ крысы, нокаутированные по гену *TLR4*, уменьшили уровень добровольного потребления алкоголя. Авторы данной работы предполагают, что это было связано со снижением экспрессии субъединицы GABA_A α2 в миндалевидном теле крыс [58]. Внутрибрюшинное введение лиганда TLR4 — LPS (lipopolysaccharide, липополисахарид) — ускорило развитие тревожного поведения у животных, впоследствии подвергавшихся воздействию этанола [67]. Мыши, лишённые TLR4 или MуD88, становились менее чувствительными к седативным и опьяняющим эффектам от этанола, тогда как мыши лишённые TLR2 не отличались от контрольных мышей в этих тестах [67].

Всё это указывает на то, что TLR4, возможно, могут опосредованно взаимодействовать с рецепторами нейромедиаторов (или другими мишенями), опосредованно регулируя уровень потребления этанола.

4.3. Роль TLR7 в патогенезе алкоголизма

Помимо уже описанных работ по TLR3 и TLR4, имеется небольшое количество исследований, направленных на изучение TLR7 в патогенезе алкоголизма. Так, экспрессия TLR7 была повышена в гиппокампе посмертных образцов мозга человека [36]. Имеются сведения о том, что этанол вызывает секрецию агониста TLR7 (miRNA let-7b), что приводит к TLR7-опосредованной активации нейродегенеративных процессов в ЦНС [36]. Влияние этанола на TLR7 и let-7b было исследовано на культуре среза гиппокампа-энторинальной коры (HEC) крыс [36]: ткань алкоголизированного гиппокампа характеризовалась повышенной экспрессией TLR7 [36]. Кроме того, было обнаружено, что этанол индуцировал образование комплексов HMGB1-miR-let-7 в микровезикулах, которые вызывают развитие нейротоксического эффекта через активацию TLR7 [36]. Этанол вызывает увеличение экспрессии TLR7 и высвобождение let-7b и HMGB1 из микроглии. Ингибирование HMGB1 глицирризином предотвращало развитие нейротоксичности [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненные за последние 20 лет исследования по изучению роли TLRs в патогенезе алкоголизма были сосредоточены преимущественно на двух подтипах TLRs — TLR3 и TLR4. В нескольких работах была исследована роль TLR7. Основное внимание было уделено анализу экспрессии этих рецепторов, а также компонентов-участников внутриклеточной сигнализации (в основном на уровне мПНК), которая опосредуется взаимодействием TLRs с их специфическими лигандами. Большая часть работ выполнена на культурах клеток и на мышах с применением различных моделей алкогольной интоксикации. Представленные в работах результаты убедительно показывают, что TLRs опосредуют развитие нейротоксического эффекта в ЦНС при употреблении этанола. Более того, TLR-сигнализация не только способствует развитию нейровоспалительного процесса в головном мозге, но, вероятно, вовлечена и в механизмы регуляции функциональной активности нейромедиаторных систем, что может вносить свой вклад в формирование патологического влечения к алкоголю. Однако представляется интересным изучить, как изменяются компоненты TLR-сигнализации во время отмены алкоголя на разных сроках отмены и как долго сохраняется в этом случае нейровоспалительный процесс в ЦНС, опосредуемый TLRs. Недостаточно исследован уровень экспрессии цитокинов на уровне белка в головном мозге при патологических состояниях, вызванных воздействием этанола. Интересным здесь остаётся и то, как изменяется

уровень экспрессии TLRs и компонентов внутриклеточной сигнализации в различных структурах мозга, которые в первую очередь подвержены изменениям в ходе алкогольной интоксикации. Понимание внутриклеточных механизмов, опосредуемых активацией TLRs, может открыть новые мишени для разработки эффективных средств, направленных на лечение алкоголизма.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Lewohl J.M., Wang L., Miles M.F., Zhang L., Dodd P.R., Harris R.A. (2000) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **24**(12), 1873-1882.
- Valles S.L., Blanco A.M., Pascual M., Guerri C. (2004) Brain Pathol., **14**(4), 365-371.
- Crews F.T., Zou J., Qin L. (2011) Brain, Behavior, and Immunity, **25**, S4-S12.
- Crews F.T. et al (2013) Biological Psychiatry, **73**(7), 602-612.
- Crews F.T., Vetreno R.P. (2014) Int. Rev. Neurobiol., **118**, 315-357.
- Crews F.T., Vetreno R.P. (2015) Psychopharmacology, **233**(9), 1543-1557.
- Crews F.T., Walter T.J., Coleman L.G., Vetreno R.P. (2017). Psychopharmacology, **234**(9-10), 1483-1498.
- Vetreno R.P., Crews F.T. (2014) Alcohol and the Nervous System. Handbook of Clinical Neurology, 477-497.
- Айрапетов М.И., Сексте Э.А., Ереско С.О., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. (2018) Биомедицинская химия, **64**(5), 451-454. [Airapetov M.I., Sexte E.A., Eresko S.O., Bychkov E.R., Lebedev A.A., Shabanov P.D. (2018) Biomeditsinskaya Khimiya, **64**(5), 451-454.]
- Айрапетов М.И., Ереско С.О., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. (2020) Медицинская иммунология, **22**(1), 77-86. [Airapetov M.I., Eresko S.O., Bychkov E.R., Lebedev A.A., Shabanov P.D. (2020) Medical Immunology, **22**(1), 77-86.]
- Ерышев О.Ф., Рыбакова Т.Г., Шабанов П.Д. (2002) Алкогольная зависимость: формирование, течение, противоречивая терапия, Элби-СПб, СПб, 192 с. [Eryshov O.F., Rybakova T.G., Shabanov P.D. (2002) Alcohol dependence: formation, course, anti-relapse therapy, Elby-SPb, SPb, 192 p.]
- Шабанов П.Д. Калишевич С.Ю. (1998) Биология алкоголизма, Лань, СПб, 272 с. [Shabanov P.D. Kalishevich S.Yu. (1998) Biology of Alcoholism, Lan', St. Petersburg, 272 p.]
- Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Стрельцов В.Ф. (2008) Гормональные механизмы подкрепления, Элби-СПб, СПб, 272 с. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Streltsov V.F. (2008) Hormonal mechanisms of reinforcement, Elby-SPb, SPb, 272 p.]
- Becker H.C. (2014) Alcohol and the Nervous System. Handbook of Clinical Neurology, **125**, 133-156.
- Walter T.J., Vetreno R.P., Crews F.T. (2017) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **41**(12), 2066-2081.
- Graeber M.B., Li W., Rodriguez M.L. (2011) FEBS Letts., **585**(23), 3798-3805.
- Hanke M.L., Kielian T. (2011) Clinical Science, **121**(9), 367-387.
- Лебедев К.А., Понякина И.Д. (2017) Иммунология образознающих рецепторов, Ленанд, М., 256 с. [Lebedev K.A., Pomyakina I.D. (2017) Immunology of Image Recognizing Receptors, Lenand, M., 256 p.]
- Crews F.T., Braun C.J., Hoplight B., Switzer R.C., Knapp D.J. (2000) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **24**(11), 1712-1723.
- Zou J., Crews F. (2010) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **34**(5), 777-789.
- Zou J., Crews F.T. (2012) Front. Neurosci., **6**, 77. DOI: 10.3389/fnins.2012.00077
- Qin L., Crews F.T. (2012) J. Neuroinflammation, **9**(1), 130. DOI: 10.1186/1742-2094-9-130
- Blednov Y.A., Benavidez J.M., Geil C., Perra S., Morikawa H., Harris R.A. (2011) Brain, Behavior, and Immunity, **25**, S92-S105.
- Qin L. et al (2008) J. Neuroinflammation, **5**(1), 10.
- Qin L., Liu Y., Hong J.S., Crews F.T. (2013) Glia, **61**(6), 855-868.
- Lawrimore C.J., Crews F.T. (2017) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **41**(5), 939-954.
- Alfonso-Loeches S., Guerri C. (2011) Crit. Revs. Clin. Lab. Sci., **48**(1), 19-47.
- Fernandez-Lizarbe S., Pascual M., Guerri C. (2009) J. Immunol., **183**(7), 4733-4744.
- Pascual M., Balino P., Alfonso-Loeches S., Aragon C.M., Guerri C. (2011) Brain, Behavior, and Immunity, **25**, S80-S91.
- Yamamoto M., Sato S., Mori K. et al. (2002) J. Immun., **169**(12), 6668-6672.
- Esen N., Kielian T. (2009) Toll-Like Receptors in Brain Abscess. Toll-Like Receptors: Roles in Infection and Neuropathology, 41-61. DOI: 10.1007/978-3-642-00549-7_3
- Leifer C.A., Medvedev A.E. (2016) J. Leukocyte Biol., **100**(5), 927-941.
- Nie L., Cai S.Y., Shao J.Z., Chen J. (2018) Front. Immunol., **9**, DOI: 10.3389/fimmu.2018.01523
- Vabulas R.M., Wagner H., Schild H. (2002) Curr. Top Microbiol. Immunol., **270**, 169-184.
- Okun E., Griffioen K.J., Lathia J.D., Tang S.C., Mattson M.P., Arumugam T.V. (2009) Brain Res. Rev., **59**(2), 278-292.
- Coleman L.G., Zou J., Crews F.T. (2017) J. Neuroinflammation, **14**(1), DOI: 10.1186/s12974-017-0799-4
- Pascual M., Baliño P., Aragón C.M.G., Guerri C. (2015) Neuropharmacology, **89**, 352-359.
- Qin L., Wu X., Block M.L., Liu Y., Breese G.R., Hong J.S., Knapp D.J., Crews F.T. (2007) Glia, **55**(5), 453-462.
- Ковальчук Л.В., Хорева М.В., Варивода А.С. (2005) Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, **4**, 96-104. [Kovalchuk L.V., Khoreva M.V., Varvoda A.S. (2005) Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology, **4**, 96-104.]
- Волков М.Ю. (2016) Научно-практическая ревматология, **54**(1), 78-85. [Volkov M.Y. (2016) Rheumatology Science and Practice, **54**(1), 78-85.]
- Takagi M., Takakubo Y., Pajarinen J., Naganuma Y., Oki H., Maruyama M., Goodman S.B. (2017) J. Orthopaedic Translation, **10**, 68-85.

42. Jang T.H., Badri Narayanan K., Ho Park H. (2015) Protein & Peptide Letters, **23**(1), 55-62.
43. Murphy K., Weaver C. (2017) Janeway's Immunobiology (Ninth Edition), Garland Science (Taylor & Francis Group), New York, 927 p.
44. Akira S., Takeda K. (2004) Nat. Rev. Immunol., **4**(7), 499-511.
45. Smith K.M., Eaton A.D., Finlayson L.M. et al. (2000) Am. J. Respir. Crit. Care Med., **162**(4), 343-356.
46. Sinch-Jasuja H., Hilf N., Arnold-Schild D., Schild H. (2001) Biol. Chem., **382**(4), 629-639.
47. Fitzgerald K., Rowe D., Barnes B. et al. (2003) J. Exp. Med., **198**(7), 1043-1055.
48. Nilsen N., Nonstad U., Klan N. et al. (2004) J. Biol. Chem., **279**(38), 39727-39735.
49. An H., Zhao W., Hou J. et al. (2006) Immunity, **25**(6), 919-928.
50. Lee M.C., Kim Y.J. (2007) Annu. Rev. Biochem., **76**, 447-480.
51. Napolitani G., Rnaldi A., Berton F. (2005) Nat. Immunol., **6**(8), 769-776.
52. Wang J., Shao Y., Benett T.A. et al. (2006) J. Biol. Chem., **281**(49), 37427-37434.
53. Scheibner K.A., Lutz M.A., Boodoo S., Fenton M.J., Powell J.D., Horton M.R. (2006) J. Immunol., **177**(2), 1272-1281.
54. McCarthy G.M., Warden A.S., Bridges C.R., Blednov Y.A., Harris R.A. (2018) Addiction Biology, **23**(3), 889-903.
55. Warden A.S., Azzam M., DaCosta A., Mason S., Blednov Y.A., Messing R.O., Harris R.A. (2019) Brain, Behavior, and Immunity, **77**, 66-76.
56. Randall P.A., Vetreño R.P., Makhijani V.H., Crews F.T., Besheer J. (2019) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **43**(1), 48-60.
57. Lawrimore C.J., Coleman L.G., Crews F.T. (2019) Psychopharmacology, **4**, DOI: 10.1007/s00213-018-5153-8
58. Liu J., Yang A.R., Kelly T., Puche A., Esoga C., June H.L., Aurelian L. (2011) Proc. Nat. Acad. Sci., **108**(11), 4465-4470.
59. Blednov Y.A., Black M., Benavidez J.M., Da Costa A., Mayfield J., Harris R.A. (2017) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **41**(3), 531-540.
60. Harris R.A., Bajo M., Bell R.L., Blednov Y.A., Varodayan F.P., Truitt J.M., Homanics G.E. (2016) J. Neuroscience, **37**(5), 1139-1155.
61. June H.L., Liu J., Warnock K.T., Bell K.A., Balan I., Bollino D., Aurelian L. (2015) Neuropsychopharmacology, **40**(6), 1549-1559.
62. Pla A., Pascual M., Renau-Piqueras J., Guerri C. (2014) Cell Death Dis., **5**(2), e1066. DOI: 10.1038/cddis.2014.46
63. Montesinos J., Alfonso-Loeches S., Guerri C. (2016) Alcoholism: Clinical and Experimental Research, **40**(11), 2260-2270.
64. Montesinos J., Pascual M., Pla A., Maldonado C., Rodríguez-Arias M., Miñarro J., Guerri C. (2015) Brain, Behavior, and Immunity, **45**, 233-244.
65. Alfonso-Loeches S., Pascual-Lucas M., Blanco A.M., Sanchez-Vera I., Guerri C. (2010) J. Neurosci., **30**(24), 8285-8295.
66. He J., Crews F.T. (2008) Experimental Neurology, **210**(2), 349-358.
67. Breese G.R., Knapp D.J., Overstreet D.H., Navarro M., Wills T.A., Angel R.A. (2008) Neuropsychopharmacology, **33**(7), 867-876.

Поступила в редакцию: 14. 11. 2019.
 После доработки: 18. 04. 2020.
 Принята к печати: 13. 05. 2020.

INVOLVEMENT OF TOLL-LIKE RECEPTORS IN THE NEUROIMMUNOLOGY OF ALCOHOLISM

M.I. Airapetov^{1,2*}, S.O. Eresko³, A.A. Lebedev¹, E.R. Bychkov¹, P.D. Shabanov^{1,4}

¹Institute of Experimental Medicine,

12 Akad. Pavlova str., St. Petersburg, 197376 Russia; *e-mail: interleukin1b@gmail.com

²St. Petersburg State Medical Pediatric University, St. Petersburg, 199034 Russia

³University ITMO (National Research University), St. Petersburg, 197101 Russia

⁴Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, 194100 Russia

Alcohol use is a global socially significant problem that remains one of the leading risk factors for disability and premature death. One of the main pathological characteristics of alcoholism is the loss of cognitive control over the amount of consumed alcohol. Growing body of evidence suggests that alterations of neuroimmune communication occurring in the brain during prolonged alcoholization are one of the main mechanisms responsible for the development of this pathology. Ethanol consumption leads to activation of neuroimmune signaling in the central nervous system through many types of Toll-like receptors (TLRs), as well as the release of their endogenous agonists (HMGB1 protein, S100 protein, heat shock proteins, extracellular matrix breakdown proteins). Activation of TLRs triggers intracellular molecular cascades leading to increased expression of the innate immune system genes, particularly proinflammatory cytokines, subsequently causing the development of a persistent neuroinflammatory process in the central nervous system, which results in massive death of neurons and glial cells in the brain structures, which are primarily associated with the development of a pathological craving for alcohol. In addition, some subtypes of TLRs are capable of forming heterodimers with neuropeptide receptors (corticoliberin, orexin, ghrelin receptors), and may also have other functional relationships.

Key words: alcoholism; brain; neuroinflammation; toll-like receptors; neuroimmune signaling

Received: 14.11.2019, revised: 18.04.2020, accepted: 13.05.2020.