

Статья поступила в редакцию 26.05.2021 г.

DOI: 10.24412/2687-0053-2021-3-89-92

Информация для цитирования:

Уракова М.А., Брындина И.Г. ВЛИЯНИЕ ФИНГОЛИМОДА НА НЕРЕСПИРАТОРНЫЕ ФУНКЦИИ ЛЁГКИХ ПРИ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ // Медицина в Кузбассе. 2021. №3. С. 89-92.

Уракова М.А., Брындина И.Г.

Ижевская государственная медицинская академия, г. Ижевск, Россия

ВЛИЯНИЕ ФИНГОЛИМОДА НА НЕРЕСПИРАТОРНЫЕ ФУНКЦИИ ЛЁГКИХ ПРИ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

Предмет исследования – Роль иммуносупрессорных механизмов в коррекции нарушений функций системы дыхания при аутоиммунной патологии – антифосфолипидном синдроме.

Цель исследования – изучить влияние иммуносупрессивного препарата финголимода на нереспираторные функции лёгких при антифосфолипидном синдроме.

Методы исследования. Эксперимент выполнен на 70 белых беспородных крысах-самцах. У крыс 1-й группы моделировали антифосфолипидный синдром (0,2-0,4 мг кардиолипинового антигена на животное через день на протяжении 3 недель). У животных 2-й группы моделирование антифосфолипидного синдрома сочетали с введением финголимода (1 мг/кг). Контролем служили крысы, которым по той же схеме вводили 0,9 % NaCl, 3-я группа. По комплексу биофизических и биохимических показателей изучены параметры сурфактанта, нитроксидергической активности и водного баланса лёгких. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы SPSS 22.

Основные результаты. Выявлено, что при экспериментальном антифосфолипидном синдроме наблюдается ухудшение поверхностно-активных свойств сурфактанта на фоне нарушения нитроксидергической активности и гипергидратации лёгких. Введение финголимода восстанавливает параметры сурфактанта, водного обмена и нитроксидергической активности, изменённые при антифосфолипидном синдроме.

Выводы. Результаты исследования свидетельствуют об эффективности иммуносупрессии в восстановлении негазообменных функций лёгких при такой системной аутоиммунной патологии, как антифосфолипидный синдром.

Ключевые слова: антифосфолипидный синдром; нереспираторные функции лёгких; финголигод

Urakova M.A., Bryndina I.G.

Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia

INFLUENCE OF FINGOLIMOD ON NON-RESPIRATORY FUNCTIONS OF LUNGS IN ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Objective – the role of immunosuppressive mechanisms in the correction of respiratory system dysfunctions associated with autoimmune pathology (antiphospholipid syndrome).

The aim of the study was to study the effect of the immunosuppressive drug fingolimod on non-respiratory functions of the lungs in antiphospholipid syndrome.

Methods. The experiments were carried out on 70 white outbred male rats. The rats of the 1st group were administered with cardiolipin antigen (0.2-0.4 mg per animal every other day for 3 weeks) to simulate antiphospholipid syndrome. Antiphospholipid syndrome in animals of the 2nd group was combined with the administration of fingolimod (1 mg / kg). The 3rd (control) group consisted of rats, which were injected with vehicle (0.9% NaCl) according to the same scheme. The complex of explored biophysical and biochemical parameters included surfactant composition and activity, pulmonary water balance and blood supply, and nitroxydergic activity of the lung. Statistical analysis of the obtained results was carried out using the SPSS 22 program.

Results. We have found that, in experimental antiphospholipid syndrome, the biophysical properties of surfactant decreased simultaneously with lung hyperhydration and impaired nitroxydergic activity. Fingolimod restored the parameters of surfactant, water balance and nitroxydergic activity of the lung, altered in antiphospholipid syndrome.

Conclusion. The results of the study indicate the effectiveness of immunosuppression in restoration of non-respiratory functions of the lung revealed in simulated systemic autoimmune pathology, antiphospholipid syndrome.

Key words: antiphospholipid syndrome; non-respiratory functions of the lung; fingolimod

К настоящему времени в ряде исследований показано снижение частоты рецидивов ремиттирующего рассеянного склероза при терапии финголимом [1-3]. Данный препарат обладает иммуносупрессивным действием: уменьшает количество периферических, в том числе аутореактивных, лимфоцитов и снижает аутоиммунную агрессию. Показано, что финголигод восстанавливает нереспираторные

функции легких, изменённые при моделировании рассеянного склероза у лабораторных животных [4]. При этом остается невыясненным вопрос о влиянии данного препарата на систему дыхания при других аутоиммунных патологиях.

Цель нашего исследования – изучение влияния финголимода на нереспираторные функции легких при антифосфолипидном синдроме (АФС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 70 беспородных крысах-самцах массой 190-270 г. Эксперименты проводились с соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выводу их из эксперимента и последующей утилизации. Для моделирования АФС крысам ($n = 25$) внутривенно вводили кардиолипиновый антиген (0,2-0,4 мг на животное) через день на протяжении 3 недель по описанной ранее методике [5]. Контролем служили крысы, которым по той же схеме вводили 0,9% NaCl ($n = 25$). Остальным животным ($n = 20$) после 3-х недельного введения кардиолипинового антигена внутрибрюшинно вводили финголимод (1 мг/кг).

Спустя 3 недели (АФС, контроль) или 4 недели (АФС в сочетании с финголимодом) крысам под наркозом (этамилал натрия, 50 мг/кг) осуществляли забор бронхо-альвеолярных смывов (БАС) путем лаважа. Изучали содержание фосфолипидов в БАС, их фракционный спектр [6] и поверхностную активность, которую оценивали по поверхностному натяжению (ПН) смывов. Статическое, минимальное и максимальное ПН измеряли по методу Вильгельми в тefлоновой кювете с подвижным барьером [7]. Водный баланс легких оценивали по уровню гемоглобина в крови и гомогенате легочной ткани (гемиглобинцианидный метод, «Био-ЛаТест»), а также по массе влажных и высушенных легких; рассчитывали кровенаполнение легких, количество общей, экстра- и интраваскулярной жидкости [8]. Для оценки нитроксидергической активности легких производили забор артериальной (арт) и венозной (вен) крови из левого и правого желудочков сердца

соответственно, в которой определяли содержание NO [9]. Рассчитывали коэффициент NO_{арт}/вен. Этот же метод [9] применяли для оценки уровня NO в БАС.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы SPSS 22. Проверку выборок на соответствие нормальному распределению осуществляли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$). Уровень статистической значимости различий признавали значимым при $p < 0,05$. С целью оценки взаимосвязей различных параметров рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных экспериментов было выявлено, что АФС вызывал ухудшение поверхностной активности легких по сравнению с контролем: повышались статическое, минимальное и максимальное ПН БАС (табл. 1). При этом снижалось общее количество фосфолипидов сурфактанта, в том числе фракций фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидной кислоты. Содержание лизофосфатидилхолина, напротив, повышалось. Выявлялись обратные корреляционные связи между минимальным ПН и уровнем как общих фосфолипидов ($r = -0,574$; $P < 0,01$), так и фосфатидилхолина ($r = -0,702$; $P < 0,01$).

Сурфактант легких представляет собой липидно-белково-углеводный комплекс, при этом основным компонентом, влияющим на его функциональную активность, являются фосфолипиды. Большую часть (до 70 %) фосфолипидов составляет фосфатидилхолин, и именно он имеет ключевое значение в

Таблица 1

Показатели сурфактантной системы лёгких при антифосфолипидном синдроме в условиях введения финголимод (M ± m)

Table 1

Indicators of the lung surfactant system in antiphospholipid syndrome under the conditions of fingolimod administration (M ± m)

Показатели	Контроль (n = 25)	АФС (n = 25)	Сочетание АФС и введения финголимод (n = 20)
Статическое ПН (мН/м)	30,81 ± 2,70	37,80 ± 1,20*	29,15 ± 0,34 ^{^^}
Минимальное ПН (мН/м)	22,94 ± 0,78	30,64 ± 0,90**	20,12 ± 1,08 ^{^^}
Максимальное ПН (мН/м)	40,06 ± 0,80	43,63 ± 0,80*	39,71 ± 0,72 ^{^^}
Фосфолипиды (мкмоль/г)	32,47 ± 4,72	15,87 ± 2,30**	29,98 ± 1,20 ^{^^}
Фосфатидилхолин (мкмоль/г)	20,81 ± 3,47	8,06 ± 1,04**	15,16 ± 0,36 ^{^^}
Лизофосфатидилхолин (мкмоль/г)	1,23 ± 0,11	2,44 ± 0,18***	0,98 ± 0,08 ^{^^}
Сфингомиелин (мкмоль/г)	2,22 ± 0,37	1,36 ± 0,29	1,80 ± 0,09
Фосфатидилсерин (мкмоль/г)	2,05 ± 0,28	0,79 ± 0,11***	1,29 ± 0,10 ^{^^}
Фосфатидилэтаноламин (мкмоль/г)	3,08 ± 0,67	1,78 ± 0,22*	2,57 ± 0,18 ^{^^}
Фосфатидная кислота (мкмоль/г)	1,80 ± 0,29	0,98 ± 0,10*	1,39 ± 0,07 ^{^^}

Примечание: * – статистически значимые отличия от контроля; ^ – статистически значимые отличия между экспериментальными группами (1 знак – $P < 0,05$; 2 знака – $P < 0,01$; 3 знака – $P < 0,001$).

Note: * – the asterisks denote the significant differences in comparison with the control group of animals; ^ – the carets denote the significant differences between experimental groups (1 symbol – $P < 0.05$; 2 symbols – $P < 0.01$; 3 symbols – $P < 0.001$).

поддержании оптимального поверхностного натяжения в альвеолах легких [10]. По-видимому, повышение поверхностного натяжения при АФС в наших экспериментах было связано с низким уровнем общих фосфолипидов сурфактанта и его основной поверхностно-активной фракции.

Введение финголимода восстанавливало поверхностную активность и фосфолипидный состав сурфактанта легких, измененные при АФС (табл. 1).

Повышалось до контрольных величин содержание фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидной кислоты. Изучение взаимосвязей исследуемых показателей при АФС в сочетании с введением финголимода показало, что корреляции, выявленные при АФС, сохранялись: так, минимальное ПН коррелировало с общими фосфолипидами ($r = -0,509$; $P < 0,05$), фосфатидилхолином ($r = -0,693$; $P < 0,01$). По-видимому, возросший уровень общих фосфолипидов и фосфатидилхолина способствовал повышению поверхностной активности легких. Помимо этого, появлялась корреляционная связь между минимальным ПН и лизофосфатидилхолином ($r = 0,578$; $P < 0,01$). Учитывая данные о детергентном действии лизофосфатидилхолина на сурфактант [11], можно предположить, что снижение уровня данной фракции при дополнительном введении финголимода способствовало восстановлению поверхностной активности сурфактанта.

Исследование нитроксидергической активности легких выявило, что АФС вызывал повышение NO в БАС, артериальной и венозной крови по сравнению с контрольными величинами (табл. 2).

Несмотря на увеличение NO в артериальном и венозном секторах крови, коэффициент $NO_{арт}/NO_{вен}$, отражающий изменение уровня NO после прохождения малого круга кровообращения, снижался. При сочетании АФС с введением финголимода показатели нитроксидергической активности легких

восстанавливались по сравнению с данными без введения препарата (табл. 2).

Известно, что финголигод является лигандом сфингозин-1-фосфатных (S1P) рецепторов лимфоцитов. Вызывая интернализацию и деградацию S1P-рецепторов, препарат ограничивает выход лимфоцитов из лимфатических узлов по градиенту концентрации сфингозин-1-фосфата [12]. Результаты наших экспериментов свидетельствуют о том, что супрессия иммунного ответа ограничивает степень нарушений нереспираторных функций легких, выявленных при моделировании АФС.

Нами также установлено, что при экспериментальном АФС возрастало количество жидкости как в интра-, так и в экстравазальном компартментах легких (табл. 2), повышалось кровенаполнение легких. Были обнаружены прямые корреляционные связи между легочным кровенаполнением и уровнем NO в венозной крови ($r = 0,721$; $P < 0,01$). Введение финголимода устраняло изменения водно-баланса легких, выявленные при АФС: содержание общей, интра-, экстравазальной жидкости и уровень кровенаполнения легких восстанавливались до контрольных величин (табл. 2).

Можно предположить, что нормализация водного обмена легких у крыс с АФС при введении финголимода также связана с его иммуносупрессивным действием, рассмотренным нами выше. Помимо этого, нельзя исключить локальные механизмы действия данного препарата на S1P-рецепторы эндотелия легких. Так, выявлено уменьшение трансудации плазмы во внесосудистое пространство при внутрибрюшинном введении финголимода грызунам с острым повреждением легких [13].

ВЫВОДЫ

Таким образом, экспериментальный АФС сопровождается дисбалансом фосфолипидного состава

Таблица 2
Показатели нитроксидергической активности и водного баланса лёгких при антифосфолипидном синдроме в условиях введения финголимода ($M \pm m$)

Table 2
Indicators of nitroxidergic activity and water balance of the lung in antiphospholipid syndrome under the conditions of fingolimod administration ($M \pm m$)

Показатели	Контроль (n = 25)	АФС (n = 25)	Сочетание АФС и введения финголимода (n = 20)
NO БАС мкмоль/л	3,04 ± 0,14	5,95 ± 0,18***	3,91 ± 0,43^^^
NO (мкмоль/л)	артериальной крови	47,00 ± 1,55	77,43 ± 1,48***
	венозной крови	33,21 ± 1,92	68,07 ± 0,95***
NO арт/вен (усл.ед.)	1,43 ± 0,12	1,14 ± 0,04***	1,36 ± 0,10^^^
ОЖЛ (% к м сердца)	111,02 ± 3,14	141,46 ± 2,21***	117,87 ± 4,79 ^^
ЭЖЛ (% к м сердца)	101,50 ± 2,99	126,87 ± 2,24***	105,49 ± 4,52^^^
ИЖЛ (% к м сердца)	10,47 ± 0,89	14,93 ± 0,86**	11,85 ± 0,97^
КЛ (% к м сердца)	12,77 ± 1,55	17,99 ± 1,04**	14,27 ± 1,41^

Примечание: * – статистически значимые отличия от контроля; ^ – статистически значимые отличия между экспериментальными группами (1 знак – $P < 0,05$; 2 знака – $P < 0,01$; 3 знака – $P < 0,001$).

Note: * – the asterisks denote the significant differences in comparison with the control group of animals; ^ – the carets denote the significant differences between experimental groups (1 symbol – $P < 0.05$; 2 symbols – $P < 0.01$; 3 symbols – $P < 0.001$).

ва и ухудшением поверхностно-активных свойств сурфактанта на фоне гипергидратации легких и нарушения их нитроксидергической активности. Введение финголимода нормализует параметры

сурфактанта, водного обмена и нитроксидергической активности легких, измененные при моделировании данной системной аутоиммунной патологии.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки.

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

- Hunter SF, Bowen JD, Reder AT. The direct effects of fingolimod in the central nervous system: Implications for relapsing multiple sclerosis. *CNS Drugs*. 2016; 30: 135-147. DOI: 10.1007/s40263-015-0297-0.
- De Stefano N, Silva DG, Barnett MH. Effect of fingolimod on brain volume loss in patients with multiple sclerosis. *CNS Drugs*. 2017; 31(4): 289-305. DOI: 10.1007/s40263-017-0415-2.
- Ghezzi A, Chitnis T, Laflamme A, Meinert R, Häring DA, Pohl D. Long-term effect of Immediate versus delayed fingolimod-treatment in young adult patients with relapsing–remitting multiple sclerosis: pooled analysis from the FREEDOMS/FREEDOMS II trials. *Neurol. Ther*. 2019; 8(2): 461-475. DOI: 10.1007/s40120-019-0146-z.
- Urakova MA, Bryndina IG. The influence of fingolimod on surfactant and hemostasis-regulating activity of the lung in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Pathogenesis*. 2020; 18 (4): 43-48. Russian (Уракова М.А., Брындина И.Г. Влияние финголимода на сурфактант и гемостаз-регулирующую активность лёгких //Патогенез. 2020. Т. 18, № 4. С. 43-48.)
- Bryndina IG, Urakova MA. Phospholipids of erythrocytes, blood plasma, surfactant and lung coagulation activity in experimental antiphospholipid syndrome. *Medical immunology*. 2015; 17(S): 122. Russian (Брындина И.Г, Уракова М.А., Лебедева Н.В. Фосфолипиды эритроцитов, плазмы крови, сурфактанта и коагуляционная активность лёгких при экспериментальном антифосфолипидном синдроме //Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № S. С. 122.)
- Papadopoulos Ch, Panopoulou M, Mylopoulou T, Mimidis K, Tentes I, Anagnostopoulos K. Cholesterol and phospholipid distribution pattern in the erythrocyte membrane of patients with hepatitis C and severe fibrosis, before and after treatment with direct antiviral agents: a pilot study. *Maedica (Bucur)*. 2020. 15(2): 162-168. DOI: 10.26574/maedica.2020.15.2.162
- Chen Z, Zhong M, Luo Y, Deng L, Hu Z, Song Y. Determination of rheology and surface tension of airway surface liquid: a review of clinical relevance and measurement techniques. *Respiratory Research*. 2019. 20(1): 274. DOI: 10.1186/s12931-019-1229-1.
- Chebotaeva AA, Komarevtseva IA, Yusuf RM, Chernykh YuA, Vishnitskaya IA, Komarevtseva EV, et al. Metabolites of nitric oxide in tissues, blood serum, mononuclear and mesenchymal stem cells. *Man and his Health*. 2016; (2): 90-95. Russian (Чеботарева А.А., Комаревцева И.А., Юсуф Р.М., Черных Ю.А., Вишницкая И.А., Комаревцева Е.В. и др. Метаболиты оксида азота в тканях, сыворотке крови, мононуклеарных и мезенхимальных стволовых клетках //Человек и его здоровье. 2016. № 2. С. 90-95.)
- Urakova MA, Bryndina IG. Surfactant in the water balance of the lungs after intracerebralhemorrhage in conditions of capsaicin blockade of the vagusnerv. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2016; 46(6): 639-643.
- Al-Saiedy M, Tarokh A, Nelson S, Hossini K, Green F, Ling Ch-Ch. The role of multilayers in preventing the premature buckling of the pulmonary surfactant. *Biochim Biophys Acta Biomembr*. 2017; 1859(8): 1372-1380. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.05.004.
- Scaccabarozzi D, Deroost K, Lays N, Salè F.O., Van den Steen PhE, Taramelli D. Altered lipid composition of surfactant and lung tissue in murine experimental malaria-associated acute respiratory distress syndrome. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0143195. DOI: 10.1371/journal.pone.0143195.
- Chaudhry BZ, Cohen JA, Conway DS. Sphingosine 1-Phosphate Receptor Modulators for the Treatment of Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics*. 2017; 14(4); 859-873. DOI: 10.1007/s13311-017-0565-4.
- Huang Z, Liu H, Zhang X, Wen G, Zhu Ch, Zhao Y. Transcriptomic analysis of lung tissues after hUC-MSCs and FTY720 treatment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mouse models. *Int. Immunopharmacol*. 2018; (63): 26-34. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.06.036.

Сведения об авторах:

УРАКОВА Мария Анатольевна, канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры патологической физиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО ИГМА Минздрава России, г. Ижевск, Россия
E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

БРЫНДИНА Ирина Георгиевна, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО ИГМА Минздрава России, г. Ижевск, Россия.

Information about authors:

URAKOVA Maria Anatolyevna, candidate of medical sciences, docent, docent of the department of pathological physiology and immunology, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia
E-mail: urakova-mariya@yandex.ru

BRYNDINA Irina Georgievna, professor, doctor of medical sciences, head of the department of pathological physiology and immunology, Izhevsk State Medical Academy, Izhevsk, Russia.

Корреспонденцию адресовать: УРАКОВА Мария Анатольевна, 426006, Удмуртская республика, г. Ижевск, ул. Баранова, д. 65, кв. 23.

E-mail: urakova-mariya@yandex.ru