

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ОПИОИДНОГО ПЕПТИДА ЛЕЙТРАГИН: РОЛЬ СИРТУИНА 1

И.А. Помыткин, Н.С. Огнева*, Ю.В. Фокин, Н.В. Петрова, О.В. Алимкина, В.Н. Каркищенко

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»
143442, Российская Федерация, Московская обл., Красногорский р-н, п. Светлые горы, 1

Сиртуин 1 (SIRT1) — гистоновая деацетилаза III класса, играющая ключевую роль в разрешении воспаления через известные эпигенетические механизмы, включающие деацетилирование гистонов и ядерного фактора κВ (NF-κB). Деацетилирование снижает транскрипционную активность NF-κB и связанную с этим продукцию провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1β (IL-1β), фактор некроза опухоли альфа (TNF-α) и интерлейкин 6 (IL-6). В настоящей работе впервые показано, что биомоделирование острого воспаления лёгких однократным введением липополисахарида (LPS) вызывает синхронные осцилляции уровней мРНК цитокинов IL-1β, TNF-α, IL-6 и деацетилазы SIRT1 в лёгких, причём максимальные амплитуды осцилляций мРНК цитокинов наблюдаются в интервале от 1,5 до 5 ч, тогда как высокие уровни мРНК SIRT1 наблюдаются до 24 ч, когда осцилляции мРНК цитокинов уже затухают, что согласуется с гипотезой о роли SIRT1 как факторе, действующем в фазе разрешения воспаления. В работе показано, что механизм противовоспалительного действия ингаляционного гексапептида Лейтрагин, агониста δ-опиоидных рецепторов, связан с его способностью повышать экспрессию мРНК SIRT1 и снижать амплитуды осцилляций мРНК IL-1β, TNF-α и IL-6 в лёгких, что в целом ведёт к разрешению воспаления в условиях биомоделирования острого воспаления лёгких.

Ключевые слова: Лейтрагин, сиртуин 1, ядерный фактор κВ, цитокины, острое воспаление лёгких

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУН НЦБМТ ФМБА России по теме «Экспрессия сиртуинов как биомаркер в оценке функциональных состояний лабораторных животных» (шифр: «Сирт-2024»).

Для цитирования: Помыткин И.А., Огнева Н.С., Фокин Ю.В., Петрова Н.В., Алимкина О.В., Каркищенко В.Н. Эпигенетические механизмы противовоспалительного действия опиоидного пептида Лейтрагин: роль сиртуина 1. *Биомедицина*. 2024;20(3):10–20. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-10-20>

Поступила 04.04.2024

Принята после доработки 06.08.2024

Опубликована 10.09.2024

EPIGENETIC MECHANISMS OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF THE OPIOID PEPTIDE LEUTRAGIN: ROLE OF SIRTUIN 1

Igor A. Pomytkin, Nastasya S. Ogneva*, Yuriy V. Fokin, Nataliya V. Petrova,
Oksana V. Alimkina, Vladislav N. Karkischenko

Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
143442, Russian Federation, Moscow Region, Krasnogorsk District, Svetlye Gory Village, 1

Sirtuin 1 (SIRT1) is a class III histone deacetylase that plays a key role in resolving inflammation through known epigenetic mechanisms involving histone and nuclear factor κ B (NF- κ B) deacetylation. Deacetylation reduces the transcriptional activity of NF- κ B and the associated production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin 1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6). In the present study, we show for the first time that biomodeling of acute lung inflammation by a single injection of lipopolysaccharide (LPS) induces synchronous oscillations of mRNA levels of cytokines IL-1 β , TNF- α , IL-6 and SIRT1 deacetylase in the lungs, the maximum amplitudes of cytokine mRNA oscillations are observed between 1.5 and 5 hours, whereas high levels of SIRT1 mRNA are observed up to 24 hours, when cytokine mRNA oscillations have already faded, which is consistent with the hypothesis about the role of SIRT1 as a factor acting in the phase of inflammation resolution. The study shows that the mechanism of anti-inflammatory action of inhaled hexapeptide Leutragin, a δ -opioid receptor agonist, is related to its ability to increase SIRT1 mRNA expression and decrease the amplitudes of IL-1 β , TNF- α , and IL-6 mRNA oscillations in the lungs, which generally leads to the resolution of inflammation in the conditions of biomodeling of acute lung inflammation.

Keywords: Leutragin, sirtuin 1, nuclear factor κ B, cytokines, acute lung inflammation

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the research was carried out within the framework of the state assignment of the Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia on the topic “Sirtuin expression as a biomarker in assessing the functional states of laboratory animals” (code: “Sirt-2024”).

For citation: Pomytkin I.A., Ogneva N.S., Fokin Yu.V., Petrova N.V., Alimkina O.V., Karkischenko V.N. Epigenetic Mechanisms of the Anti-inflammatory Action of the Opioid Peptide Leutragin: Role of Sirtuin 1. *Journal Biomed.* 2024;20(3):10–20. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-10-20>

Submitted 04.04.2024

Revised 06.08.2024

Published 10.09.2024

Введение

Сиртуин 1 (SIRT1) — НАД-зависимая гистоновая деацетилаза III класса, отвечает за деацетилирование остатков лизина в составе белковых субстратов, локализованных в ядре [21]. Модулируя степень ацетилирования гистонов H1, H3 и H4 и некоторых факторов транскрипции, SIRT1 играет роль эпигенетического регулятора, способного влиять на экспрессию ряда генов. В некоторых случаях активность SIRT1 выполняет функцию отрицательной обратной связи к действию транскрипционных факторов, ограничивая транскрипцию генов, регулируемых такими факторами, как E2F1 [20], c-MYC [24] и HIF-1 α [7, 14]. Эти факторы инициируют транскрипцию гена *SIRT1*, а экспрессируемый белок SIRT1, в свою очередь, деацетилюет остатки лизинов в их составе, ингибируя тем самым их транскрипционную

активность. Ряд исследований указывает, что экспрессия SIRT1 может выполнять роль отрицательной обратной связи в процессах воспаления, регулируемых транскрипционной активностью ядерного фактора κ B (NF- κ B) [6, 11–13, 16, 19, 23, 25]. Консервативный мотив связывания NF- κ B обнаруживается трижды в пределах последовательности промотора гена *SIRT1* человека [19], причём все мотивы связывания NF- κ B функциональны, и субъединицы RelA и p50 гетеродимера NF- κ B, связываясь с промотором, многократно повышают уровни мРНК *SIRT1* [11]. Отсроченная повышенная экспрессия мРНК *SIRT1* в условиях активации NF- κ B была подтверждена в экспериментах *in vitro* при стимуляции клеток фактором некроза опухоли альфа (TNF- α) и липополисахаридом (LPS) [16, 25], причём было обнаружено, что в этом процессе ключевую роль играет RelA [25].

В свою очередь SIRT1 снижает транскрипционную активность NF-κB, деацетилируя остаток лизина 310 в составе RelA, тем самым ограничивая воспаление [6, 13, 23]. Опираясь на эти факты, авторы работы [12] выдвинули гипотезу, что экспрессия SIRT1 при воспалении играет роль отрицательной обратной связи, ограничивающей воспаление, где NF-κB действует как положительный регулятор транскрипции гена *SIRT1*, а экспрессируемый SIRT1 выполняет роль отрицательного регулятора активности NF-κB [12]. Однако эта гипотеза всё ещё нуждается в экспериментальном подтверждении *in vivo*, тем более что имеются противоречащие этой гипотезе данные о подавлении экспрессии SIRT1 в печени и лейкоцитах мышей на уровне мРНК и белка в первые часы после введения LPS, известного активатора NF-κB [26].

Воспалительный процесс в лёгких является характерной особенностью пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), смертность от которого может достигать 40% [9, 17]. В биомоделировании острого воспалительного повреждения лёгких достигнуты значительные успехи [8]. Неинфекционное «стерильное» воспаление лёгких индуцируется интратрахеальным введением мышам липополисахарида *E. coli* 055:B5 (LPS) с предварительной сенсibilизацией животных α-галактозилцерамидом (α-GalCer), липидным агонистом инвариантных естественных Т-киллеров (iNKT) [2]. Механизм LPS-индуцированного воспаления включает связывание LPS в рецепторный комплекс с толл-подобным рецептором 4 (TLR4) [18] и запуск канонического пути активации NF-κB, что ведёт к экспрессии медиаторов воспаления, таких как интерлейкин 1β (IL-1β), TNF-α и интерлейкин 6 (IL-6), вовлечённых в развитие острого воспалительного ответа в лёгких [15].

SIRT1 играет ключевую роль в разрешении воспаления при заболеваниях дыхательных путей [22, 27], что делает ак-

туальным изучение механизмов действия препаратов, направленных на повышение активности SIRT1 при воспалительных заболеваниях лёгких. Ингаляционный гексапептид Лейтрагин, агонист δ-опиоидных рецепторов, повышает уровни мРНК SIRT1 в условиях моделирования острого воспаления лёгких, что ведёт к деацетилированию остатков лизина в сайтах ядерной локализации HMGB1 и подавлению секреции провоспалительного белка высокой подвижности B1 (HMGB1) [10]. При курсовом введении ингаляционный Лейтрагин подавляет продукцию IL-6 в лёгких в условиях моделирования воспаления лёгких и ОРДС у мышей [1]. Однако влияние Лейтрагина на временные профили экспрессии мРНК SIRT1 и провоспалительных цитокинов требует дополнительного изучения.

Цель работы — изучить профили экспрессии мРНК SIRT1 и провоспалительных медиаторов IL-1β, TNF-α, IL-6 в лёгких мышей линии C57BL/6 в условиях моделирования острого воспаления лёгких, а также эффекты ингаляционного введения Лейтрагина на указанные профили экспрессии мРНК SIRT1, IL-1β, TNF-α, IL-6 в заданных условиях.

Материалы и методы

Расходные материалы

α-GalCer и LPS (*E. coli* 055:B5) были приобретены в «Sigma-Aldrich» («Merck», США). Гексапептид Лейтрагин (Н-Тур-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg-ОН диацетат) был приобретён в ООО «Бион» (Россия). Набор РНК-экстрактов для извлечения РНК был приобретён в ООО «Синтол» (Россия). Набор РЕВЕРТА-Л для синтеза кДНК был получен от ООО «АмплиСенс» (Россия). Золетил 100, седамидин и антиседан были получены от «Virbac» (Франция), «Interchemie» (Нидерланды) и «Orion Pharma» (Финляндия). Все остальные реа-

генты были приобретены в «Sigma-Aldrich» («Merck», США).

Лабораторные животные

Исследования проводились в ФГБУН НЦБМТ ФМБА России на мышах линии C57BL/6Y, самцах в возрасте 10–12 недель, средней массой $20 \pm 2,0$ г. Животные были получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская обл.) и отобраны в эксперимент методом рандомизации. Мышей содержали в микроизоляторной системе Rair IsoSystem по 6 особей в группе. Животные соответствовали категории улучшенных конвенциональных. В качестве рациона получали стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Водопроводная очищенная вода всем животным давалась *ad libitum* в стандартных поилках. Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре воздуха 18–22°C, относительной влажности 60–70% и искусственном освещении с циклом 12/12.

Исследования проводились в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях от 22.09.2010 г.; Базельской декларацией (2011); Федеральным законом от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009 г. «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 89 «Об ут-

верждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза»; Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»; Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 г. № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов»; Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [4]; Руководством по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [3]. Все эксперименты были одобрены биоэтической комиссией ФГБУН НЦБМТ ФМБА России.

Модель острого воспаления лёгких

Острое воспаление лёгких и ОРДС моделировали на мышах линии C57BL/6, как детально описано в [1]. Схема исследования представлена на рис. 1.

Животным моделировали острое поражение лёгких и респираторный дистресс-синдром последовательным введением α -галактозилцерамида, ингаляционно в дозе 1 мкг/мышь, и через 24 ч — комбинации липополисахарида *E. coli* в дозе 300 мкг/мышь с добавлением 100 мкг/мышь мурамилпептида и 10 мкл/мышь полного адьюванта Фрейнда, здесь и далее обозначаемой как «LPS», интратрахе-

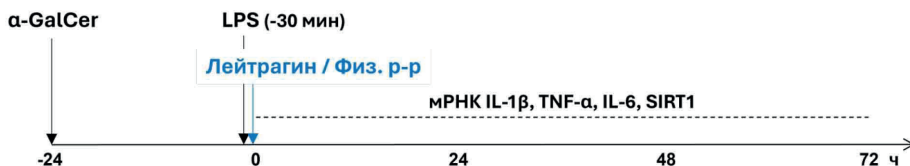


Рис. 1. Схема исследования.
Fig. 1. Study design.

ально под инъекционным наркозом, состоящим из комбинации препаратов — Золетил 100 («Virbac», Франция) и Медетамидин («Ari-San», Россия) в дозе 12,5 и 1 мг/кг соответственно, а также сразу после проведения хирургической манипуляции вводился Антиседан («Orion Pharma», Финляндия) подкожно в дозе 2,5 мг/кг, что способствовало снятию нежелательных эффектов на организм мыши и быстрому выходу из наркоза. Животные были рандомизированы в две группы по 75 животных в каждой. В первой контрольной группе животные через 30 мин после инъекции LPS получили 100 мкл физ. р-ра однократной ингаляцией. Во второй группе животные получили 0,1 мг/кг Лейтрагина в виде 100 мкл р-ра с концентрацией 0,02 мкг/мл. По пять животных из каждой группы выводилось из эксперимента в следующих временных точках: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 12,0; 18,0; 24,0; 48,0 и 72,0 ч после введения физ. р-ра или Лейтрагина. Образцы ткани легких, извлеченные после эвтаназии животных, помещались в пробирку типа Eppendorf объёмом 2 мл.

ПЦР в реальном времени

Общую РНК экстрагировали из образцов лёгких с помощью набора «РНК-экстрэн» («Синтол», Россия) и переводили в комплементарную ДНК с помощью набора «РЕВЕРТА-Л» («АмплиСенс», Россия) в соответствии с инструкциями производителей. Уровни транскрипции генов, кодирующих белки IL-1 β , TNF- α , IL-6 и SIRT1 в исследуемых пробах лёгких, определялись с помощью амплификатора CFX-96 («Bio-Rad», США) с использованием специфических праймеров и флуоресцентных зондов, указанных в таблице. В качестве референсного гена был выбран ген *GAPDH*. Результаты измерений представляли как среднее кратное изменение уровней мРНК целевого гена относительно исходного значения в контрольной группе на 15-й минуте эксперимента (n=5).

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с помощью t-критерия Стьюдента, однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (one-way RM ANOVA) с апостериорным тестом Даннетта (Dunnett's test) или двухфакторного дисперсионного анализа (two-way ANOVA) с апостериорным тестом Бонферрони (Bonferroni's test) для множественных сравнений между группами с использованием программного обеспечения GraphPad Prism v.8.3.0 («San Diego», США). Критерий Колмогорова — Смирнова применяли для выбора параметрических или непараметрических методов статистического анализа. Интерполяция кривых проводилась сплайнами Акима. Были использованы следующие обозначения: M — среднее, m — стандартная ошибка, n — объём выборки, p — достигнутый уровень значимости. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Профили мРНК SIRT1 и провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α и IL-6 в лёгких мышей линии C57BL/6 после индукции острого воспаления лёгких LPS и однократного ингаляционного введения физ. р-ра показаны на рис. 2.

Введение LPS вызывает синхронные осцилляции уровней мРНК цитокинов и SIRT1 в лёгких в течение 72 ч после индукции воспаления, причём статистически значимое повышение амплитуды уровней мРНК наблюдается на 5 ч для всех молекул. Однофакторный дисперсионный анализ с повторными измерениями (one-way RM ANOVA) выявил статистически значимые изменения уровней мРНК IL-1 β ($F_{14,56} = 9,901$; $p < 0,0001$), TNF- α ($F_{14,56} = 20,31$; $p < 0,0001$), IL-6 ($F_{14,56} = 10,25$; $p < 0,0001$) и SIRT1 ($F_{14,56} = 8,044$; $p < 0,0001$) в интервале 0,25–72 ч. Апостериорный тест Даннетта показал статистически значимое 50-кратное повышение уровней мРНК IL-1 β с пиком

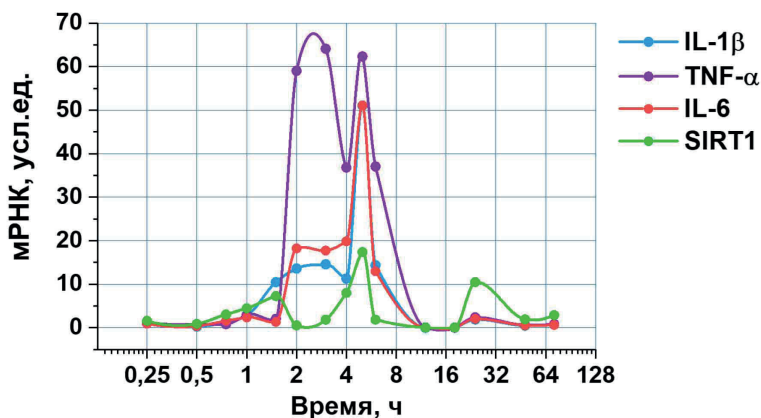


Рис. 2. Профили мРНК IL-1 β , TNF- α , IL-6 и SIRT1 в тканях лёгких мышей линии C57BL/6 с острым воспалением лёгких, индуцированным LPS, в интервале 0,25–72 ч.

Примечание: символы — $M \pm m$ ($n=5$) экспериментальных значений в указанных временных точках; линии — интерполяция сплайнами Акима.

Fig. 2. IL-1 β , TNF- α , IL-6, and SIRT1 mRNA profiles in lung tissues of C57BL/6 mice with LPS-induced acute lung inflammation between 0.25 and 72 hours.

Note: Symbols are $M \pm m$ ($n=5$) experimental values at the indicated time points; lines are interpolation by Akeem splines.

на 5 ч ($p<0,0001$), 60-кратное повышение уровней мРНК TNF- α с пиками на 3 и 5 ч ($p<0,0001$), 50-кратное повышение уровней мРНК IL-6 с пиком на 5 ч ($p<0,0001$), а также 10-кратное и 7-кратное повышение уровней мРНК SIRT1 с пиками на 5 ч ($p<0,0001$) и 24 ч ($p<0,01$) относительно соответствующих исходных значений (временная точка 0,25 ч). Высокие уровни TNF- α наблюдались уже в интервале от 2 до 3 ч, что указывает на лидирующую роль TNF- α в раннем периоде воспаления. Однократное введение LPS вызывает осцилляцию уровней мРНК SIRT1 с тремя выраженными пиками, причём статистически значимое относительно исходного повышения мРНК наблюдается на 5 ч (вместе с другими молекулами) и на 24 ч, когда транскрипция провоспалительных цитокинов уже затухает.

Однократное введение Лейтрагина ведёт к статистически значимым изменениям профилей мРНК SIRT1 и цитокинов (рис. 3).

Двухфакторный дисперсионный анализ (two-way ANOVA) показал статистически значимый основной эффект Лейтрагина

на уровни мРНК IL-1 β ($F_{1,120}=12,30$; $p<0,001$), TNF- α ($F_{1,120}=24,00$; $p<0,0001$), IL-6 ($F_{1,120}=6,688$; $p<0,01$) и SIRT1 ($F_{1,120}=26,32$; $p<0,0001$), а также эффект фактора времени на указанные профили мРНК ($p<0,001$) по сравнению с контролем. Апостериорный тест Бонферрони для множественных сравнений показал, что Лейтрагин статистически значимо повышал экспрессию мРНК SIRT1 (рис. 3а; $p<0,05$ до $p<0,0001$), снижая при этом амплитуды осцилляций мРНК провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α и IL-6 (рис. 3b–d; $p<0,0001$).

Сравнение площадей под кривыми осцилляций мРНК в период с 0,25 до 72 ч показывает, что Лейтрагин повышает транскрипцию SIRT1 в 2,5 раза, снижая при этом транскрипцию провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в 1,9; 1,6 и 1,9 раза соответственно (рис. 4).

Обсуждение результатов

В настоящей работе изучены профили изменений лёгочных уровней мРНК провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6

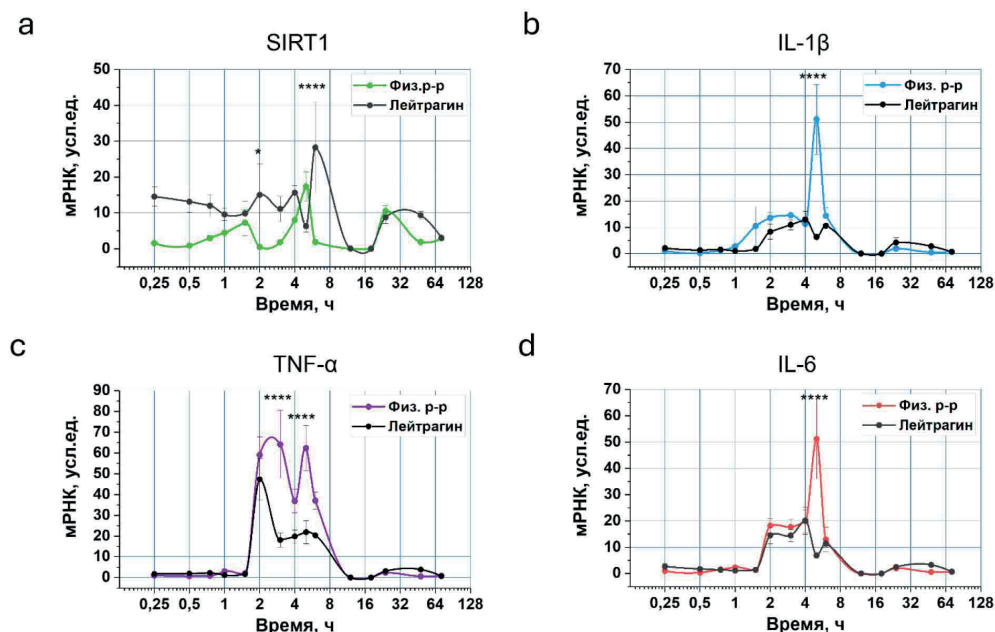


Рис. 3. Эффекты однократного ингаляционного введения Лейтрагина на уровни мРНК SIRT1 (a), IL-1 β (b), TNF- α (c) и IL-6 (d) в лёгких мышей C57BL/6 с острым воспалением лёгких, индуцированным LPS, в интервале 0,25–72 ч.

Примечание: символы — $M \pm m$ ($n=5$) экспериментальных значений в указанных временных точках; линии — интерполяция сплайнами Акима; * — $p < 0,05$, **** — $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (физ. р-р).

Fig. 3. Effects of single inhalation administration of Leutragin on mRNA levels of SIRT1 (a), IL-1 β (b), TNF- α (c) and IL-6 (d) in the lungs of C57BL/6 mice with LPS-induced acute lung inflammation between 0.25 and 72 hours.

Note: symbols are $M \pm m$ ($n=5$) experimental values at the indicated time points; lines are interpolation by Akeem splines; * — $p < 0.05$, **** — $p < 0.0001$ compared to control (saline).

и TNF- α и деацетилазы SIRT1 у мышей в интервале от 15 мин до 72 ч после однократного введения LPS, моделирующего острое воспаление лёгких. Впервые показано, что введение LPS вызывает синхронные колебания (осцилляции) уровней мРНК IL-1 β , IL-6, TNF- α и SIRT1 в лёгких, характеризующиеся периодическими подъёмами и падениями концентраций мРНК во времени. Наличие осцилляций является аргументом в пользу гипотезы о роли SIRT1 как элементе, обеспечивающем отрицательную обратную связь в системе регуляции воспалительного ответа, вызываемого транскрипционным фактором NF- κ B [13], т. к. возникновение осцилляций в биологических системах требует наличия отрицательной обратной связи [25]. Сравнение

временных профилей экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов и SIRT1 показывает, что амплитуды осцилляций мРНК цитокинов максимальны в период 5 ч после введения LPS, тогда как высокие уровни мРНК SIRT1 наблюдаются в период до 24 ч, когда осцилляции мРНК цитокинов уже затухают, что в целом согласуется с представлениями о роли SIRT1 как о факторе, действующем в фазе разрешения воспаления, следующей за острой фазой воспаления [10–13].

Лейтрагин играет роль дополнительного индуктора мРНК SIRT1 в условиях воспаления, что ведёт к общему повышению уровней мРНК SIRT1 и усилению отрицательной обратной связи, ограничивающей экспрессию провоспалительных цитокинов.

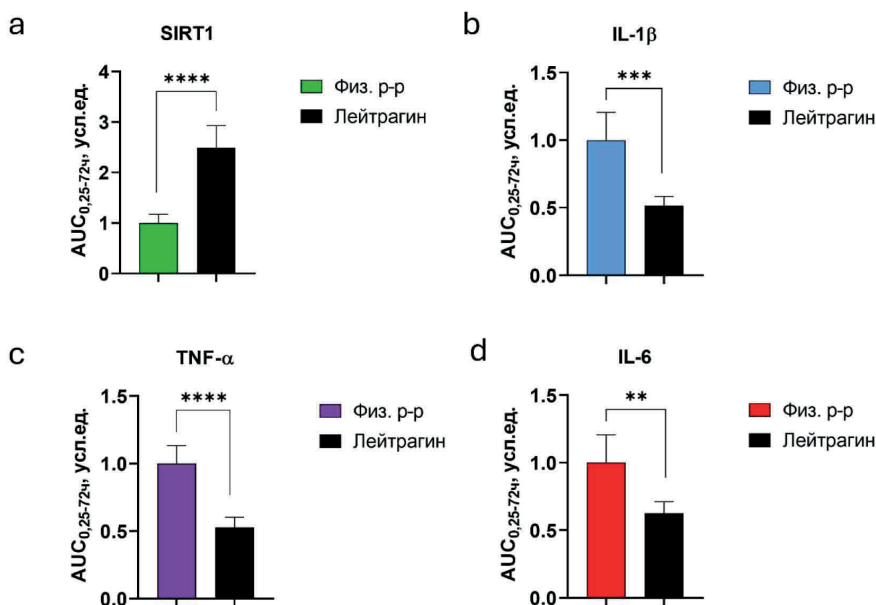


Рис. 4. Эффекты однократного ингаляционного введения Лейтрагина на площади под кривыми осцилляций мРНК SIRT1 (a), IL-1β (b), TNF-α (c) и IL-6 (d) в лёгких мышей линии C57BL/6 с острым воспалением лёгких, индуцированным LPS, за период 0,25–72 ч.

Примечание: столбцы — $M \pm m$ ($n=5$); ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$, **** — $p < 0,0001$ по сравнению с контролем (физ. р-р).

Fig. 4. Effects of single inhalation administration of Leutragin on the areas under the oscillation curves of SIRT1 (a), IL-1β (b), TNF-α (c) and IL-6 (d) mRNA mRNA in the lungs of C57BL/6 mice with LPS-induced acute lung inflammation over a period of 0.25–72 hours.

Note: Columns are $M \pm m$ ($n=5$); ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$, **** — $p < 0,0001$ compared to control (saline).

С учётом результатов, полученных в настоящей работе, можно представить предположительную схему действия Лейтрагина как противовоспалительного препарата, влияющего на эпигенетические механизмы разрешения воспаления с участием деацетилазы SIRT1 (рис. 5).

С учётом того, что Лейтрагин также подавляет секрецию HMGB1, медиатора тяжёлого и летального воспаления [23], полученные в настоящей работе результаты указывают на универсальность противовоспалительного действия Лейтрагина, затрагивающего множество провоспалительных сигнальных путей, что отличает этот препарат от глюкокортикоидов и моноклональных антител.

Закключение

В настоящей работе впервые показано, что моделирование острого воспаления лёгких *in vivo* однократным интратрахеальным введением липополисахарида (LPS) вызывает синхронные осцилляции мРНК SIRT1 и провоспалительных цитокинов в лёгких, что согласуется с известной гипотезой о роли SIRT1 как элементе, обеспечивающем отрицательную обратную связь в системе регуляции активности канонического пути активации NF-κB. Амплитуды осцилляций мРНК провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNF-α максимальны в ранней фазе острого воспаления (период от 1,5 до 5 ч), тогда как высокие уровни мРНК SIRT1 наблюдаются в пери-

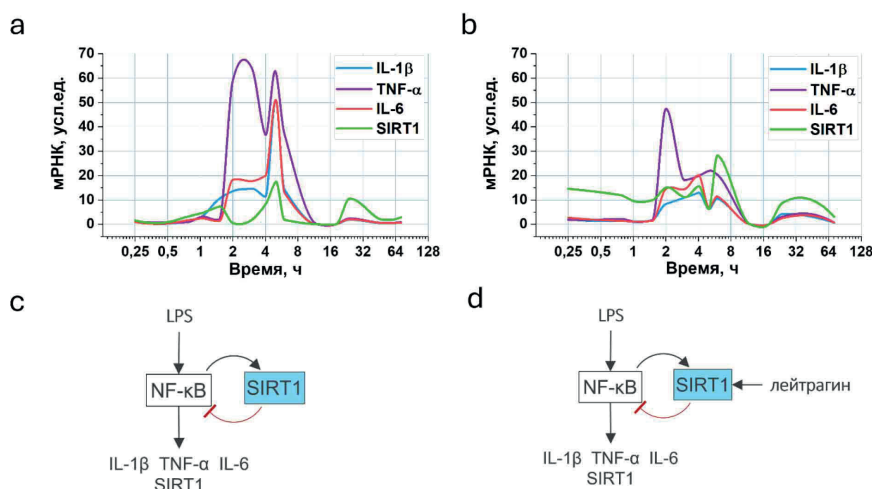


Рис. 5. Схема противовоспалительного действия Лейтрагина. LPS вызывает повышение уровней мРНК IL-1β, IL-6, TNF-α и SIRT1 в форме синхронных осцилляций (а), вызванных взаимодействием NF-κB и SIRT1, где SIRT1 играет роль обратной отрицательной связи, инактивирующей NF-κB и ограничивающей воспалительный ответ [6–13] (с). Лейтрагин проявляет противовоспалительный эффект, снижая амплитуды осцилляций мРНК провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNF-α через дополнительную индукцию мРНК SIRT1 (b), что ведёт к усилению обратной отрицательной связи с участием SIRT1 и снижению экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов (d).

Fig. 5. Scheme of the anti-inflammatory action of Leutragin. LPS causes an increase in the mRNA levels of IL-1β, IL-6, TNF-α and SIRT1 in the form of synchronized oscillations (a) caused by the interaction between NF-κB and SIRT1, where SIRT1 plays the role of negative feedback inactivating NF-κB and limiting the inflammatory response [6–13] (c). Leutragin exhibits anti-inflammatory effects by reducing the amplitudes of mRNA oscillations of pro-inflammatory cytokines IL-1β, IL-6 and TNF-α through additional induction of SIRT1 mRNA (b), leading to enhanced negative feedback involving SIRT1 and decreased mRNA expression of pro-inflammatory cytokines (d).

од до 24 ч, когда осцилляции мРНК провоспалительных цитокинов уже затухают, что в целом согласуется с представлениями о роли SIRT1 как о факторе, действующем в фазе разрешения воспаления, следующей за острой фазой воспаления.

Лейтрагин проявляет противовоспалительное действие, вызывая дополнительную опережающую индукцию мРНК SIRT1 и снижая амплитуду осцилляций мРНК противовоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNF-α.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Каркищенко В.Н., Помыткин И.А., Петрова Н.В., Нестеров М.С., Агельдинов Р.А., Зотова Л.В., Колоскова Е.М., Слободенюк В.В., Скворцова В.И. Лейтрагин подавляет экспрессию цитокинов, включая интерлейкин-6, в модели «цитокинового шторма» у мышей линии C57BL/6Y с индуцированным острым респираторным дистресс-синдромом. *Биомедицина*. 2020;16(4):34–43. [Karkischenko V.N., Pomytkin I.A., Petrova N.V., Nesterov M.S., Ageldinov R.A., Zotova L.V., Koloskova E.M., Slobodenyuk V.V., Skvortsova V.I. Leutragin podavlyayet ekspressiyu tsitokinov, vkladyaya interleykin-6, v modeli «tsitokinovogo shtorma» u myshey linii C57BL/6Y s indutsirovannym ostrym respiratornym distress-sindromom [Leutragin inhibits expression of cytokines, including interleukin-6, in a “cytokine storm” model in C57BL/6Y mice with induced acute respiratory distress syndrome]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):34–43. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-4-34-43.
- Помыткин И.А., Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Нестеров М.С., Петрова Н.В. Модель фатального острого поражения лёгких и острого респираторного дистресс-синдрома. *Биомедицина*.

- 2020;16(4):24–33. [Pomytkin I.A., Karkischenko V.N., Fokin Yu.V., Nesterov M.S., Petrova N.V. Model' fatal'nogo ostrogo porazheniya legkikh i ostrogo respiratornogo distress-sindroma [A model of fatal acute lung injury and acute respiratory distress syndrome]. *Biomeditsina [Journal Biomed]*. 2020;16(4):24–33. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-16-4-24-33
3. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010. [*Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh [A guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research]*. Ed. by N.N. Karkischenko, S.V. Grachev. Moscow: Profil'-2C Publ., 2010. (In Russian)].
4. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' первая [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one]*. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K Publ., 2012. (In Russian)].
5. Cao Y., Lopatkin A., You L. Elements of biological oscillations in time and space. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2016;23(12):1030–1034. DOI: 10.1038/nsmb.3320
6. Chen L.F., Mu Y., Greene W.C. Acetylation of RelA at discrete sites regulates distinct nuclear functions of NF-kappaB. *EMBO J.* 2002;21(23):6539–6548. DOI: 10.1093/emboj/cdf660
7. Chen R., Dioum E.M., Hogg R.T., Gerard R.D., Garcia J.A. Hypoxia increases sirtuin 1 expression in a hypoxia-inducible factor-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 2011;286(16):13869–13878. DOI: 10.1074/jbc.M110.175414
8. D'Alessio F.R. Mouse models of acute lung injury and ARDS. *Methods Mol. Biol.* 2018;1809:341–350. DOI: 10.1007/978-1-4939-8570-8_22
9. Ferreira-Coimbra J., Sarda C., Rello J. Burden of community-acquired pneumonia and unmet clinical needs. *Adv. Ther.* 2020;37(4):1302–1318. DOI: 10.1007/s12325-020-01248-7
10. Karkischenko V.N., Skvortsova V.I., Gasanov M.T., Fokin Y.V., Nesterov M.S., Petrova N.V., Alimkina O.V., Pomytkin I.A. Inhaled [D-Ala2]-dynorphin 1–6 prevents hyperacetylation and release of high mobility group box 1 in a mouse model of acute lung injury. *J. Immunol Res.* 2021;2021:4414544. DOI: 10.1155/2021/4414544
11. Katto J., Engel N., Abbas W., Herbein G., Mahlknecht U. Transcription factor NFkB regulates the expression of the histone deacetylase SIRT1. *Clin. Epigenetics.* 2013;5(1):11. DOI: 10.1186/1868-7083-5-11
12. Kauppinen A., Suuronen T., Ojala J., Kaarniranta K., Salminen A. Antagonistic crosstalk between NF-kB and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders. *Cell Signal.* 2013;25(10):1939–1948. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.06.007
13. Kiernan R., Brès V., Ng R.W., Coudart M.P., El Messaoudi S., Sardet C., Jin D.Y., Emiliani S., Benkirane M. Post-activation turn-off of NF-kappa B-dependent transcription is regulated by acetylation of p65. *J. Biol. Chem.* 2003;278(4):2758–2766. DOI: 10.1074/jbc.M209572200
14. Lim J.H., Lee Y.M., Chun Y.S., Chen J., Kim J.E., Park J.W. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1alpha. *Mol. Cell.* 2010;38(6):864–878. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.05.023
15. Liu T., Zhang L., Joo D., Sun S.C. NF-kB signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target Ther.* 2017;2:17023. DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23
16. Liu X., Wang N., Zhu Y., Yang Y., Chen X., Fan S., Chen Q., Zhou H., Zheng J. Inhibition of extracellular calcium influx results in enhanced IL-12 production in LPS-treated murine macrophages by down-regulation of the CaMKKβ-AMPK-SIRT1 signaling pathway. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:6152713. DOI: 10.1155/2016/6152713
17. Rubenfeld G.D., Caldwell E., Peabody E., Weaver J., Martin D.P., Neff M., Stern E.J., Hudson L.D. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N. Engl. J. Med.* 2005;353(16):1685–1693. DOI: 10.1056/NEJMoa050333
18. Shimazu R., Akashi S., Ogata H., Nagai Y., Fukudome K., Miyake K., Kimoto M. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J. Exp. Med.* 1999;189(11):1777–1782. DOI: 10.1084/jem.189.11.1777
19. Voelter-Mahlknecht S., Mahlknecht U. Cloning, chromosomal characterization and mapping of the NAD-dependent histone deacetylases gene sirtuin 1. *Int. J. Mol. Med.* 2006;17(1):59–67. DOI: 10.3892/ijmm.17.1.59
20. Wang C., Chen L., Hou X., Li Z., Kabra N., Ma Y., Nemoto S., Finkel T., Gu W., Cress W.D., Chen J. Interactions between E2f1 and Sirt1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nat. Cell Biol.* 2006;8(9):1025–1031. DOI: 10.1038/ncb1468
21. Wu Q.J., Zhang T.N., Chen H.H., Yu X.F., Lv J.L., Liu Y.Y., Liu Y.S., Zheng G., Zhao J.Q., Wei Y.F., Guo J.Y., Liu F.H., Chang Q., Zhang Y.X., Liu C.G., Zhao Y.H. The sirtuin family in health and disease. *Signal Transduct. Target Ther.* 2022;7(1):402. DOI: 10.1038/s41392-022-01257-8
22. Yang Y., Liu Y., Wang Y., Chao Y., Zhang J., Jia Y., Tie J., Hu D. Regulation of SIRT1 and its roles in inflammation. *Front. Immunol.* 2022;13:831168. DOI: 10.3389/fimmu.2022.831168
23. Yeung F., Hoberg J.E., Ramsey C.S., Keller M.D., Jones D.R., Frye R.A., Mayo M.W. Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.* 2004;23(12):2369–2380. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600244
24. Yuan J., Minter-Dykhouse K., Lou Z. A C-Myc-Sirt1 feedback loop regulates cell growth and transformation. *J. Cell Biol.* 2009;185(2):203–211. DOI: 10.1083/jcb.200809167

25. Zhang H.N., Li L., Gao P., Chen H.Z., Zhang R., Wei Y.S., Liu D.P., Liang C.C. Involvement of the p65/RelA subunit of NF-kappaB in TNF-alpha-induced SIRT1 expression in vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010;397(3):569–575. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.05.160
26. Zhang Z., Lowry S.F., Guarente L., Haimovich B. Roles of SIRT1 in the acute and restorative phases following induction of inflammation. *J. Biol. Chem.* 2010;285(53):41391–41401. DOI: 10.1074/jbc.M110.174482
27. Zhou Y., Zhang F., Ding J. As a modulator, multitasking roles of SIRT1 in respiratory diseases. *Immune Netw.* 2022;22(3):e21. DOI: 10.4110/in.2022.22.e21

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Помыткин Игорь Анатольевич, к.х.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Igor A. Pomytkin, Cand. Sci. (Chem.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ipomytkin@mail.ru

Огнева Настасья Сергеевна*, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

Nastasya S. Ogneva*, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: ognevanastya@mail.ru

Фокин Юрий Владимирович, к.б.н., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Yuriy V. Fokin, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: fokin@scbmt.ru

Алимкина Оксана Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Oksana V. Alimkina, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: alimkina@scbmt.ru

Петрова Наталья Владимировна, ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Nataliya V. Petrova, Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: m-sklad@yandex.ru

Каркищенко Владислав Николаевич, д.м.н., проф., ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России»;
e-mail: scbmt@yandex.ru

Vladislav N. Karkischenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: scbmt@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author