

УДК 615.015.4:615.214:57.084-1:612.41:591.111.1

Для цитирования: Маркова Е.В., Серенко Е.В., Топоркова Л.Б., Княжева М.А., Савкин И.В., Гойман Е.В., Орловская И.А. Влияние модулированных *ex vivo* аминазином иммунокомпетентных клеток на гемопоэз при агрессии. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2023. № 3 (120). С. 12-20. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-3\(120\)-12-20](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-3(120)-12-20)

Влияние модулированных *ex vivo* аминазином иммунокомпетентных клеток на гемопоэз при агрессии

Маркова Е.В., Серенко Е.В., Топоркова Л.Б., Княжева М.А., Савкин И.В., Гойман Е.В., Орловская И.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»
Россия, 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Следствием пролонгированного стресса, включая хронический социальный стресс, являются тревога и агрессивное либо депрессивно-подобное поведение. Нейроэндокринные сигналы, формирующиеся при длительном социальном стрессе, обуславливают активацию миелопоэза, что сопровождается усиленной миграцией моноцитов из костного мозга на периферию и приобретением ими «воспалительного» М1-фенотипа. Часть таких моноцитов мигрирует также в головной мозг, активируя эндотелиальные клетки и микроглию, что приводит к формированию нейровоспалительного статуса и изменению поведения. Ранее нами были получены приоритетные данные о возможности редактирования паттернов агрессивного поведения модулированными *ex vivo* аминазином сингенными иммунокомпетентными клетками и показаны цитокин-опосредованные механизмы этого эффекта. **Цель:** оценка костномозгового гемопоэза и клеточного состава периферической крови у экспериментальных животных при формировании агрессивного поведения вследствие хронического социального конфликта и после его редактирования модулированными *ex vivo* аминазином сингенными иммунокомпетентными клетками селезенки. **Материалы и методы.** Мышам-самцам (CBAxС57Bl/6)F1 с агрессивным поведением, сформированным результате 20-кратного опыта побед в ежедневных агонистических взаимодействиях с пассивным партнером, трансплантировали сингенные иммунокомпетентные клетки селезенки с функциональной активностью, модулированной *ex vivo* аминазином. У агрессивных мышей и агрессивных реципиентов оценивали количество костномозговых гемопоэтических предшественников согласно рекомендациям Stem Cell Technologies (Canada) и клеточный состав периферической крови. **Результаты.** В соответствии с полученными данными проведенных исследований показано существенное усиление в костном мозге гранулоцитарно-макрофагального (КОЕ-ГМ) направления дифференцировки гемопоэтической стволовой клетки у агрессивных самцов (CBAxС57Bl/6)F1, что сопровождалось нарастанием в периферической крови мышей популяций лейкоцитов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов. Спленциты, выделенные у агрессивных доноров (CBAxС57Bl/6)F1 и модулированные *ex vivo* аминазином, после трансплантации сингенным агрессивным реципиентам оказывали корректирующее воздействие на указанные показатели, снижая таковые практически до уровня, характерного для интактных животных соответствующего возраста. Механизмы корректирующего гемопоэза влияния модулированных *ex vivo* аминазином иммунокомпетентных клеток селезенки при агрессивном состоянии обсуждаются.

Ключевые слова: экспериментальные животные, агрессивное поведение, иммунокомпетентные клетки, аминазин, гемопоэз, костный мозг, периферическая кровь.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в результате хронического социального конфликта формируется aberrантное поведение, в частности агрессивное [1, 2], сопровождающееся перераспределением субпопуляций лимфоцитов в костном мозге в сторону увеличения количества CD4⁺-клеток при снижении количества CD8⁺-клеток [3], активацией миелопоэза, усилением миграции костномозговых клеток моноцитарного ряда на периферию и приобретением ими «воспалительного» фенотипа [4]. Приводятся данные, что этому способствует высокое содержание в крови у агрессивных животных одного из ключевых хемокинов, регулирующего миграцию моноцитов – моноцитарного хемоаттрактантного

протеина (MCP-1) [3]. Более того, хемокины, включая MCP-1, представлены не только в иммунной системе, но и в мозге, где они могут играть роль нейромодуляторов [5]. Считается доказанным, что костномозговые моноциты способны мигрировать также и в головной мозг с последующей дифференцировкой в макрофаги М1-фенотипа, обладающие провоспалительной активностью [6, 7, 8]. Их воздействие на эндотелиальные клетки, нейроны и микроглию обуславливает повышенную продукцию цитокинов, хемокинов, молекул адгезии, что создает условия для ускорения аккумуляции мигрирующих в мозг костномозговых моноцитов. В этой парадигме резидентным иммунным клеткам (микроглии)

отводится роль источника нейровоспалительных сигналов [8, 9].

Активация микроглии с повышением продукции в мозге провоспалительных цитокинов, ключевых регуляторов настроения и поведения, изменяет нейрохимическую установку мозга, влияет на нейропластичность, а также индуцирует нейроэндокринные сигналы, модулирующие функционирование центральных и периферических иммунных органов [3, 10, 11]. Так, симпатическая нервная система, регулирующая физические реакции на ситуации борьбы/бегства, иннервирует ниши гемопоэтических стволовых клеток, расположенные в костном мозге и лимфоидных органах, с модуляцией дифференцировки и высвобождения лейкоцитов посредством β -адренорецепторного механизма [10, 12]. При этом гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая и гипоталамо-гипофизарно-гонадная системы находятся между собой в антагонистических взаимодействиях, в силу чего нейробиологический профиль взаимоотношений данных систем смещается в сторону дисбаланса либо с высоким уровнем тестостерона и низким уровнем кортизола, либо с высоким уровнем кортизола и низким уровнем тестостерона.

В литературе приводятся убедительные сведения о том, что тестостерон и кортизол оказывают влияние на социальную агрессию [13, 14, 15, 16, 17]. В частности, показана отрицательная корреляционная связь между уровнем кортизола и показателями общей агрессии на различных когортах лиц [14]. Кроме того, высокие концентрации кортизола способны подавлять синтез серотонина и серотониновых рецепторов 1-го типа [18], что согласуется с данными об ингибирующем влиянии многократного опыта агрессии у самцов на серотонинергическую систему с тотальной активацией дофаминергической системы [1, 3, 10, 19], и может быть механизмом регистрируемых при этом изменений иммунологического статуса. Так, обнаружено, что базальное содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций ($CD8^+$ и $CD4^+$) у агрессивных и неагрессивных животных существенно различается. При этом агрессивная линия крыс по сравнению с неагрессивными имеет более высокий индекс реактивности (отношение $CD4^+/CD8^+$ Т-лимфоцитов) в крови и селезенке, обусловленный пониженным содержанием $CD3^+CD8^+$ Т-лимфоцитов, повышенную иммунную реактивность, проявляющуюся усилением цитотоксической активности НК-клеток селезенки, пролиферативного ответа спленоцитов на Т-зависимый антиген и гуморального иммунного ответа [3, 10].

Важным звеном, объединяющим функционирование нервной, иммунной и эндокринной си-

стем, являются также цитокины, оказывающие влияние как на активность симпатической, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамо-гипофизарно-гонадной систем, так и на центральные нейромедиаторные системы, включенные, как указывалось выше, в нейробиологические механизмы агрессивного поведения и играющие важную роль в психонейроиммунотуляции [3, 10, 11, 20, 21, 22, 23]. Установлена прямая корреляционная связь между уровнями медиаторов воспаления и выраженностью агрессивного поведения [24]. С этими данными согласуются результаты собственных исследований, согласно которым при формировании агрессивной стратегии поведения в отдельных структурах головного мозга увеличиваются уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-2 и IL-6, а редактирование агрессивного поведения модулированными *ex vivo* аминазином сингенными спленоцитами сопровождается снижением нейровоспаления [25, 26, 27, 28]. При этом у агрессивных реципиентов показана также модуляция продукции цитокинов периферическими иммунокомпетентными клетками, что проявилось в снижении стимулированной митогенами продукции спленоцитами IFN- γ , IL-2, IL-6 и IL-10 [29, 30]. Противоположные изменения уровней центральных и периферических цитокинов, наблюдаемые при формировании агрессивного поведения и его купировании, свидетельствуют о цитокин-опосредованном редактировании поведенческого фенотипа агрессивных реципиентов после трансплантации прекультивированных с аминазином сингенных иммунокомпетентных клеток. Существенным звеном здесь может быть модуляция миелопоэза и миграции костномозговых клеток моноцитарного ряда в головной мозг и на периферию с приобретением ими «воспалительного» потенциала.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка костномозгового гемопоэза и клеточного состава периферической крови у экспериментальных животных при формировании агрессивного поведения вследствие хронического социального конфликта и после его редактирования модулированными *ex vivo* аминазином сингенными иммунокомпетентными клетками селезенки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на мышках-самцах (СВАхС57BL/6)F1 в возрасте 3-4 месяцев, полученных из питомника НИЛЭМ (Томск). Животные содержались в условиях лабораторного вивария в клетках по 5-10 особей, в течение не менее двух недель до начала эксперимента на стандартной диете, при свободном доступе к воде и естественном световом режиме. Все манипуляции выполняли в световой фазе цикла дня.

Исследования проведены с соблюдением норм современной биомедицинской этики и одобрены на заседании локально-этического комитета НИИФКИ. При выполнении исследования исполнителями были приложены все усилия, чтобы минимизировать количество животных, использованных в экспериментах.

Учитывая наличие в популяции самцов (CBA×C57BL/6)F1 особей с активным и пассивным типами поведения, представители которых характеризуются определенными структурно-функциональными характеристиками нервной и иммунной систем и различной психофизиологической реакцией на стрессовые воздействия [26], для формирования однородных групп используемых в исследовании экспериментальных животных все мыши были предварительно протестированы в соответствии со стандартной процедурой теста Открытое поле. В исследование были включены только особи с активным типом поведения, у которых в результате 20-кратного опыта побед в ежедневных агонистических взаимодействиях с пассивным партнером было сформировано агрессивное поведение (модель хронического социального конфликта) [2]. Формирование агрессивного поведения у мышей-самцов (CBA×C57BL/6)F1 было подтверждено поведенческим фенотипированием [31].

Агрессивные самцы (CBA×C57BL/6)F1 использовались в последующих экспериментах, в том числе в качестве доноров и реципиентов иммунокомпетентных клеток. Спленциты агрессивных доноров были выделены в стерильных условиях, обработаны *in vitro* аминазином и внутривенно введены сингенным агрессивным реципиентам, как это было подробно описано ранее [26, 27, 30, 31]. В контрольной группе агрессивных реципиентов подготовка и трансплантация иммунокомпетентных клеток селезенки были проведены в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что прекультивирование донорских клеток проводилось без аминазина. В качестве группы интактного контроля использовались мыши с активным типом поведения в соответствии с тестом Открытое поле.

Через 24 часа после трансплантации сингенных спленцитов всех животных выводили из эксперимента путем декапитации. Для оценки количества костномозговых гемопоэтических предшественников костный мозг мышей вымывали из бедренной кости с помощью шприца кондиционной средой RPMI 1640, содержащей 10% FCS. Подсчитывали количество клеток костного мозга (ККМ) в 1 мл с помощью гематологического анализатора PCE-90 (ERMA Inc, Japan). Для определения количества коммитированных предшественников клетки костного мозга животных

в концентрации $2,0 \times 10^4$ /мл инкубировали в 24-луночных планшетах в метилцеллюлозной среде M 3434 (Stem Cell Technology, Canada), содержащей цитокины SCF, EPO, IL-3, IL-6. Гранулоцитарно-макрофагальные (КОЕ-ГМ) и гранулоцитарно-эритроидно-макрофагально-мегакариоцитарные (КОЕ-ГЭММ) колонии подсчитывали под инвертированным микроскопом после 14-дневной инкубации при температуре 37°C, во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂, согласно рекомендациям Stem Cell Technologies (Canada). Полученные данные представлены как количество КОЕ/10⁵ ККМ.

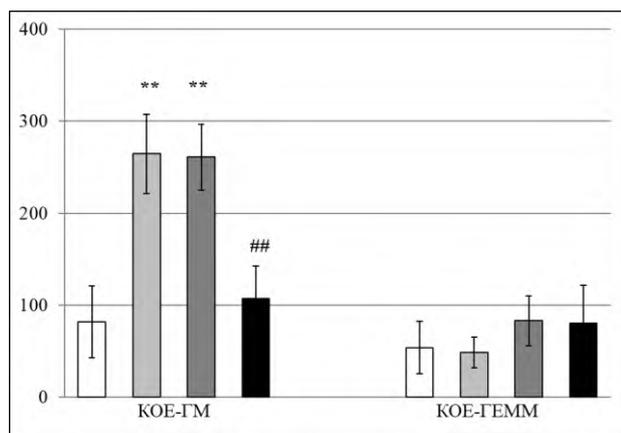
Клеточный состав периферической крови мышей оценивали на гематологическом анализаторе PCE-90 (ERMA Inc, Japan). Относительное количество форменных элементов крови подсчитывали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ SPSS 11.0. При анализе количественных данных проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для каждой из непрерывных величин определяли среднее (M) и стандартное отклонение (SD). В ходе проведения сравнений независимых выборок при числе групп, равном 2, учитывая выявленное отклонение распределения от нормального в исследуемых группах, применяли критерий Манна-Уитни. Для множественного сравнения показателей использовали критерий Крускала-Уоллиса. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался $p \leq 0,05$. Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95-99% при использовании соответствующих статистических методов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Формирование агрессивного поведения у мышей-самцов (CBA×C57BL/6)F1 сопровождалось, как и ожидалось, оживлением в костном мозге миелоидной дифференцировки гемопоэтической стволовой клетки: количество гранулоцитарно-макрофагальных предшественников (КОЕ – ГМ) значительно превышало таковое в костном мозге контрольной группы интактных мышей с активным типом поведения (рис. 1).

В результате усиления миелоидной дифференцировки в костном мозге в периферической крови агрессивных мышей наблюдалось значительное увеличение количества лейкоцитов и моноцитов (табл. 1). Усиление костномозгового гемопоэза, равно как и нарастание в периферической крови указанных клеточных популяций, по всей видимости, является следствием активации при стресс-индуцированной агрессии симпатического отдела вегетативной нервной системы [10, 12, 32].



Р и с у н о к 1. Колониеобразующая активность костномозговых гемопоэтических предшественников агрессивных реципиентов (СВА×С57В1/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* аминазином

Примечание. КОЕ-ГМ – гранулоцитарно-макрофагальные колонии. КОЕ-ГЭММ – гранулоцитарно-эритроидно-макрофагально-мегакариоцитарные колонии. По оси ординат – количество КОЕ/10⁵ клеток костного мозга. Обозначение столбиков: белые – интактный контроль (мыши с активным типом поведения); светло-серые – агрессивные мыши; тёмно-серые – агрессивные реципиенты после трансплантации спленоцитов, прекультивированных без аминазина (контрольная группа агрессивных реципиентов); чёр-

ные – агрессивные реципиенты после трансплантации спленоцитов, прекультивированных с аминазином (опытная группа агрессивных реципиентов). Статистические значимые различия по сравнению с соответствующим показателем в группе интактного контроля: ** – $p \leq 0,01$; в группах агрессивных мышей и агрессивных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов: #-# – $p \leq 0,01$. Результаты представлены в виде $M \pm SD$; $n=10-12$ в каждой группе.

Как показано на рисунке 1, после трансплантации агрессивным самцам (СВА×С57В1/6)F1 сингенных спленоцитов, прекультивированных без аминазина, объем популяции КОЕ-ГМ оставался на уровне такого у агрессивных мышей. Обработка выделенных у агрессивных доноров спленоцитов перед трансплантацией аминазином приводила к существенному снижению количества КОЕ-ГМ у сингенных агрессивных реципиентов практически до уровня интактного контроля. Вместе с тем не обнаружено статистически значимых различий между показателями количества ранних предшественников (КОЕ-ГЭММ) в костном мозге у агрессивных и интактных мышей-самцов (СВА×С57В1/6)F1, равно как и у агрессивных реципиентов (СВА×С57В1/6)F1 после трансплантации сингенных иммунокомпетентных клеток селезенки.

Т а б л и ц а 1. Количество форменных элементов в периферической крови агрессивных реципиентов (СВА×С57В1/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* аминазином

Группа исследования	Лейкоциты (10 ⁶ /мл)	Моноциты (%)	Нейтрофилы (%)	Лимфоциты (%)
Интактный контроль (мыши с активным типом поведения)	6,9 ± 1,4	1,1 ± 0,3	17,1 ± 2,0	62,0 ± 3,0
Мыши с агрессивным поведением	12,3 ± 2,8**	3,1 ± 1,2**	26,3 ± 4,3**	79,9 ± 5,1**
Контрольная группа агрессивных реципиентов	10,2 ± 2,1**	2,7 ± 1,1*	20,9 ± 6,4	74,3 ± 8,0*
Опытная группа агрессивных реципиентов	7,3 ± 2,5≠	1,5 ± 0,3≠	15,6 ± 4,4≠	65,4 ± 5,2≠

Примечание. Контрольная группа агрессивных реципиентов – агрессивные реципиенты после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных без аминазина. Опытная группа агрессивных реципиентов – агрессивные реципиенты после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных с аминазином. Статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем в группе интактных животных: * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$; между соответствующими показателями в группах агрессивных мышей и агрессивных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов: ≠ – $p \leq 0,01$. Результаты представлены в виде $M \pm SD$; $n=10-12$ в каждой группе.

Как видно из таблицы 1, формирование агрессивного поведения у мышей сопровождалось также увеличением количества сегментоядерных нейтрофилов, что наблюдается при воспалительных состояниях, в том числе связанных с хроническим стрессом [4, 33]. При этом наблюдалось и существенное нарастание в периферической крови популяции лимфоцитов, что согласуется с данными ранее опубликованных работ [3, 10].

Введение модулированных *ex vivo* аминазином спленоцитов от агрессивных доноров (СВА×С57В1/6)F1 приводило у сингенных агрес-

сивных реципиентов к значительному снижению количества моноцитов и лейкоцитов в периферической крови. Аналогичные данные были получены и в отношении популяции нейтрофилов. После трансплантации прекультивированных с аминазином спленоцитов корректировался также объем популяции лимфоцитов периферической крови, что может быть одним из механизмов продемонстрированного ранее снижения интенсивности гуморального иммунного ответа при указанном воздействии у агрессивных реципиентов [26, 27].

Усиление миелоидного направления дифференцировки при хроническом социальном стрессе обсуждалось ранее в зарубежных и отечественных публикациях [8, 33, 34]. У агрессивных самцов (CBA×C57Bl/6)F1 мы также наблюдали усиленный миелопоэз, что подтверждается большинством показателей.

Представленные данные могут свидетельствовать о корректирующем эффекте модулированных *ex vivo* аминазином спленоцитов агрессивных доноров (CBA×C57Bl/6)F1 на миелопоэз агрессивных сингенных реципиентов, что, очевидно, обусловлено продемонстрированным ранее снижением у последних уровня провоспалительных цитокинов [26, 27, 28, 29, 30]. По всей видимости, коррекция воспалительного статуса обеспечивает снижение количества гемопоэтических предшественников в костном мозге и ряда форменных элементов крови (моноцитов, лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов) [8].

Как вытекает из полученных результатов исследования, трансплантация спленоцитов, прекультивированных без аминазина, не изменяет вышеуказанные показатели гемопоэза у агрессивных сингенных реципиентов (CBA×C57Bl/6)F1, а также не оказывает существенное влияние на показатели поведения реципиентов, функциональную активность их иммунокомпетентных клеток и цитокиновый статус в отличие от прекультивированных с аминазином спленоцитов, как было изложено ранее в ряде опубликованных нами исследований [26, 27, 28, 29, 30, 31]. Вместе с тем изменение *ex vivo* аминазином функционального фенотипа иммунокомпетентных клеток селезенки агрессивных мышей придает указанным клеткам потенциал, в том числе модулирующий и гемопоэз при состоянии стресс-индуцированной агрессии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены данные о том, что формирование агрессивной стратегии поведения у мышей-самцов (CBA×C57Bl/6)F1 сопровождалось существенным усилением в костном мозге гранулоцитарно-макрофагального (КОЕ-ГМ) направления дифференцировки гемопоэтической стволовой клетки и нарастанием в периферической крови популяций лейкоцитов, моноцитов, сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов.

Модулированные *ex vivo* аминазином спленоциты агрессивных доноров (CBA×C57Bl/6)F1 после трансплантации сингенным агрессивным реципиентам оказывали корректирующее воздействие на указанные показатели, снижая таковые практически до уровня, характерного для интактных животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета РФ, выделенных на выполнение фундаментальных научных исследований в ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», тема № 122011800324-4 (2021–2023).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследования с животными проводились в соответствии с законодательством Российской Федерации, положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, требованиями и рекомендациями Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных и одобрены на заседании локально-этического комитета НИИФКИ (протокол № 139 от 30.05.2022 г.).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kudryavtseva N.N. Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies. *Aggress. Viol. Behav.* 2020 May-June;52:101403. doi: 10.1016/j.avb.2020.101403
2. Kudryavtseva NN, Smagin DA, Kovalenko IL, Vishnivetskaya GB. Repeated positive fighting experience in male inbred mice. *Nat Protoc.* 2014 Nov;9(11):2705-17. doi: 10.1038/nprot.2014.156. Epub 2014 Oct 23. PMID: 25340443.
3. Идова Г.В., Альперина Е.Л., Геворгян М.М., Жукова Е.Н. Психонейроиммуномодуляция. агрессия и иммунитет. *Патогенез.* 2014. Т. 12, № 3. С. 27-32. Idova GV, Alperina EL, Gevorgyan MM, Zhukova EN. Psychoneuroimmunomodulation. aggression and immunity. *Pathogenesis.* 2014;12(3):27-32 (in Russian).
4. McKim DB, Yin W, Wang Y, Cole SW, Godbout JP, Sheridan JF. Social Stress Mobilizes Hematopoietic Stem Cells to Establish Persistent Splenic Myelopoiesis. *Cell Rep.* 2018 Nov 27;25(9):2552-2562.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2018.10.102. PMID: 30485819; PMCID: PMC6342493.
5. Rostène W, Kitabgi P, Parsadaniantz SM. Chemo-kines: a new class of neuromodulator? *Nat Rev Neurosci.* 2007 Nov;8(11):895-903. doi: 10.1038/nrn2255. PMID: 17948033.
6. Torres-Platas SG, Cruceanu C, Chen GG, Turecki G, Mechawar N. Evidence for increased microglial priming and macrophage recruitment in the dorsal anterior cingulate white matter of depressed suicides. *Brain Behav Immun.* 2014 Nov;42:50-9. doi: 10.1016/j.bbi.2014.05.007. Epub 2014 May 20. PMID: 24858659.
7. Wohleb ES, McKim DB, Sheridan JF, Godbout JP. Monocyte trafficking to the brain with stress and inflammation: a novel axis of immune-to-brain com-

- munication that influences mood and behavior. *Front Neurosci.* 2015 Jan 21;8:447. doi: 10.3389/fnins.2014.00447. PMID: 25653581; PMCID: PMC4300916.
8. Reader BF, Jarrett BL, McKim DB, Wohleb ES, Godbout JP, Sheridan JF. Peripheral and central effects of repeated social defeat stress: monocyte trafficking, microglial activation, and anxiety. *Neuroscience.* 2015 Mar 19;289:429-42. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.001. Epub 2015 Jan 14. PMID: 25596319; PMCID: PMC4536813.
 9. Гоголева В.С., Друцкая М.С., Атретханы К.С.-Н. Микроглия в гомеостазе центральной нервной системы и нейровоспалении. Молекулярная биология. 2019. Т. 53, № 5. С. 790-798. Gogoleva VS, Drutskaya MS, Atretkhany KS-N. Microglia in the homeostasis of the central nervous system and neuroinflammation. *Mol. Biol.* 2019;53(5):790-798. doi: 10.1134/S0026898419050057 (in Russian).
 10. Takahashi A, Flanigan ME, McEwen BS, Russo SJ. Aggression, Social Stress, and the Immune System in Humans and Animal Models. *Front Behav Neurosci.* 2018 Mar 22;12:56. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00056. PMID: 29623033; PMCID: PMC5874490.
 11. Alperina E, Idova G, Zhanaeva S. Rodent modeling of aggression, elucidating the role of cytokines in the brain. In: Martin C, Preedy VR, Patel VB (eds) *Handbook of Anger, Aggression, and Violence.* Springer, Cham. 2023:1-20. doi: 10.1007/978-3-030-98711-4_150-1
 12. Tan KS, Nackley AG, Satterfield K, Maixner W, Diatchenko L, Flood PM. Beta2 adrenergic receptor activation stimulates pro-inflammatory cytokine production in macrophages via PKA- and NF-kappaB-independent mechanisms. *Cell Signal.* 2007 Feb;19(2):251-60. doi: 10.1016/j.cellsig.2006.06.007. PMID: 16996249.
 13. Montoya ER, Terburg D, Bos PA, van Honk J. Testosterone, cortisol, and serotonin as key regulators of social aggression: A review and theoretical perspective. *Motiv Emot.* 2012 Mar;36(1):65-73. doi: 10.1007/s11031-011-9264-3. Epub 2011 Nov 25. PMID: 22448079; PMCID: PMC3294220.
 14. Макушкина О.А., Гурина О.И., Голенкова В.А. Биологические основы агрессивного поведения. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2021. Т. 13, № 5. С. 76-82. Makushkina OA, Gurina OI, Golenkova VA. Biological basis of aggressive behavior. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2021;13(5):76-82. doi: 10.14412/2074-2711-2021-5-76-82 (in Russian).
 15. Тошчакова В.А., Вялова Н.М., Бойко А.С., Гусев С.И., Иванова С.А., Бохан Н.А. Уровень кортизола и адренокортикотропного гормона у лиц с криминальным поведением. Фундаментальные исследования. 2013. № 12-1. С. 81-84. Toshchakova VA, Vyvalova NM, Boiko AS, Gusev SI, Ivanova SA, Bokhan NA. The level of cortisol and adrenocorticotropic hormone in individuals with criminal behavior. *Basic Research.* 2013;12-1:81-84 (in Russian).
 16. Иванова С.А., Тошчакова В.А., Бохан Н.А. Гормональные факторы в регуляции агрессии. Томск: «Иван Федоров», 2014. 108 с. Ivanova SA, Toshchakova VA, Bokhan NA. Hormonal factors in the regulation of aggression. Tomsk: Printing House "Ivan Fedorov", 2014:108 (in Russian).
 17. Manchia M, Comai S, Pinna M, Pinna F, Fanos V, Denovan-Wright E, Carpiniello B. Biomarkers in aggression. *Adv Clin Chem.* 2019;93:169-237. doi: 10.1016/bs.acc.2019.07.004. Epub 2019 Sep 11. PMID: 31655730.
 18. Узбеков М.Г., Максимова Н.М., Бриллиантова В.В., Шихов С.Н., Москвитина Т.А., Узбекова Д.Г., Горобец Л.Н., Стрелкова И.М., Булатецкий С.В., Смолина Н.В. К вопросу о биологических маркерах эффективности терапии психических и неврологических заболеваний. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2018. № 2 (99). С. 5-14. Uzbekov MG, Maximova NM, Brilliantova VV, Shikhov SN, Moskvitina TA, Uzbekova DG, Gorobets LN, Strelkova IM, Bulatetsky SV, Smolina NV. On the issue of biological markers of efficiency of therapy of mental and neurologic diseases. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2018;2(99):5-14. doi: 10.26617/1810-3111-2018-2(99)-5-14 (in Russian).
 19. Smagin DA, Galyamina AG, Kovalenko IL, Kudryavtseva NN. Altered expression of genes associated with major neurotransmitter systems in the reward-related brain regions of mice with positive fighting experience. *Int J Mol Sci.* 2022 Nov 7;23(21):13644. doi: 10.3390/ijms232113644. PMID: 36362437; PMCID: PMC9655062.
 20. Стояк В.А., Иванова С.А. Нейромедиаторные системы в регуляции агрессивного поведения (обзор литературы). Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2010. № 3 (60). С. 70-76. Stoyak VA, Ivanova SA. Neurotransmitter systems in the regulation of aggressive behavior (literature review). *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry.* 2010;3(60):70-76 (in Russian).
 21. Miller AH, Haroon E, Raison CL, Felger JC. Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety.* 2013 Apr;30(4):297-306. doi: 10.1002/da.22084. Epub 2013 Mar 6. PMID: 23468190; PMCID: PMC4141874.
 22. Salvador AF, de Lima KA, Kipnis J. Neuromodulation by the immune system: a focus on cytokines. *Nat. Rev. Immunol.* 2021; 21(8):526-541. doi: 10.1038/s41577-021-00508-z
 23. Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Лобачева О.А., Невидимова Т.И. Основы клинической психо-нейроиммунологии. Томск: Книго, 2014. 80 с. Vetlugina TP, Nikitina VB, Lobacheva OA, Nevdimova TI. Fundamentals of clinical psychoneuroimmunology. Tomsk: Knigo Publishing House. 2014:80 (in Russian).

24. Holtmann M, Poustka L, Zepf FD, Banaschewski T, Priller J, Bölte S, Legenbauer T. Severe affective and behavioral dysregulation in youths is associated with a proinflammatory state. *Z Kinder Jugendpsychiatr Psychother*. 2013 Nov;41(6):393-9. doi: 10.1024/1422-4917/a000255. PMID: 24240495.
25. Idova GV, Markova EV, Gevorgyan MM, Alperina EL, Zhukova EN. Changes in Production of Cytokines by C57Bl/6J Mouse Spleen during Aggression Provoked by Social Stress. *Bull Exp Biol Med*. 2016 Mar;160(5):679-82. doi: 10.1007/s10517-016-3248-y. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27021091.
26. Маркова Е.В. Иммунокомпетентные клетки и регуляция поведенческих реакций в норме и патологии. Красноярск, 2021. 184 с. Markova EV. Immune cells and regulation of behavioral reactions in health and disease. Krasnoyarsk, 2021:184 doi: 10.12731/978-5-907208-67-4 (in Russian).
27. Markova EV, Serenko EV, Knyazheva MA. Aggressive behavior correction by the transplantation of *in vitro* modulated immune cells. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(4):693-698. doi: 10.15789/1563-0625-ABC-2263.
28. Серенко Е.В., Маркова Е.В. Влияние трансплантации модулированных *ex vivo* аминазином иммунокомпетентных клеток на паттерны поведения и центральный уровень цитокинов у сингенных агрессивных реципиентов. *Патогенез*. 2022. № 3. С. 117-118. Serenko EV, Markova EV. Effect of transplantation of immunocompetent cells modulated *ex vivo* with Aminazin on behavioral patterns and the central level of cytokines in syngeneic aggressive recipients. *Pathogenesis*. 2022;3:117-118. doi: 10.25557/2310-0435.2022.03.117-118 (in Russian).
29. Markova E, Serenko E, Knyazheva M. Aggressive phenotype editing by modulated immune cells. *Eur Psychiatry*. 2022 Sep 1;65(Suppl 1):S95-6. doi: 10.1192/j.eurpsy.2022.278. PMID: PMC9564868.
30. Маркова Е.В., Серенко Е.В. Цитокин-опосредованные механизмы коррекции агрессивного поведения модулированными *in vitro* иммунокомпетентными клетками. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2023; 1 (118): 32-40. Markova EV, Serenko EV. Cytokine-mediated mechanisms for the correction of aggressive behavior by *in vitro* modulated immunocompetent cells. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2023;1(118):32-40. doi: 10.26617/1810-3111-2023-1(118)-32-40 (in Russian).
31. Маркова Е.В., Серенко Е.В. Коррекция паттернов агрессивного поведения модулированными *ex vivo* иммунокомпетентными клетками: экспериментальное исследование. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2022. № 3 (116). С. 5-13. Markova EV, Serenko EV. Correction of aggressive behavior patterns by *ex vivo* modulated immunocompetent cells: an experimental study. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2022;3(116):5-13. doi: 10.26617/1810-3111-2022-3(116)-5-13 (in Russian).
32. Maestroni GJM. Adrenergic Modulation of Hematopoiesis. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2020 Mar;15(1):82-92. doi: 10.1007/s11481-019-09840-7. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30762159.
33. Orlovskaya IA, Toporkova LB, Lvova MN, Sorokina IV, Katokhin AV, Vishnivetskaya GB, Goiman EV, Kashina EV, Tolstikova TG, Mordvinov VA, Avgustinovich DF. Social defeat stress exacerbates the blood abnormalities in *Opisthorchis felinus*-infected mice. *Exp Parasitol*. 2018 Oct;193:33-44. doi: 10.1016/j.exppara.2018.08.004. Epub 2018 Aug 27. PMID: 30165039.
34. Орловская И.А., Топоркова Л.Б., Савкин И.В., Князева М.А., Серенко Е.В., Гойман Л.В., Шевченко Ю.А., Маркова Е.В. Влияние растворимых факторов макрофагов М2 фенотипа на гемопоэз при депрессивно-подобном состоянии. *Медицинская иммунология*. 2022. Т. 24, № 5. С. 1057-1064. Orlovskaya IA, Toporkova LB, Savkin IV, Knyazheva MA, Serenko EV, Goiman LV, Shevchenko YuA, Markova EV. Influence of soluble factors from the M2 phenotype macrophages on hematopoiesis in depression-like state. *Medical Immunology*. 2022;24(5):1057-1064. doi: 10.15789/1563-0625-IOS-2516 (in Russian).

Поступила в редакцию 5.06.2023
Утверждена к печати 28.08.2023

Маркова Евгения Валерьевна, д.м.н., заведующая лабораторией нейроиммунологии, главный научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии»; главный научный сотрудник лаборатории молекулярной патологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный университет», профессор ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет». Author ID Scopus 58177556400. ResearcherID AAK-5322-2021. ORCID iD 0000-0002-9746-3751. Author ID РИНЦ 109914. SPIN-код РИНЦ 8439-7310.

Серенко Евгений Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 57325420800. ORCID iD 0000-0001-7807-3603. Author ID РИНЦ 1085958. SPIN-код РИНЦ 3197-7109.

Топоркова Людмила Борисовна – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 6603328128. ORCID iD 0000-0001-7475-0830. Author ID РИНЦ 82784. SPIN-код РИНЦ 8915-8320.

Княжева Мария Александровна – к.б.н., младший научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 57221404169. ORCID iD 0000-0002-2537-8232. Author ID РИНЦ 703313. SPIN-код РИНЦ 8913-3798.

Савкин Иван Владимирович – научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 6507473764. ResearcherID HSG-1191-023. ORCID iD 0000-0002-1065-9234. Author ID РИНЦ 117121. SPIN-код РИНЦ 8344-4247.

Гойман Елена Владимировна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 9845063100. ORCID iD 0000-0002-6443-6917. Author ID РИНЦ 607664. SPIN-код РИНЦ 6886-9372.

Орловская Ирина Анатольевна – д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии». Author ID Scopus 35513682400. ORCID iD 0000-0002-7425-4439. Author ID РИНЦ 128761. SPIN-код РИНЦ 2759-6633.

✉ Маркова Евгения Валерьевна, evgeniya_markova@mail.ru

UDC 615.015.4:615.214:57.084-1:612.41:591.111.1

For citation: Markova E.V., Serenko E.V., Toporkova L.B., Knyazheva M.A., Savkin I.V., Goiman E.V., Orlovskaya I.A. Influence of immunocompetent cells modulated *ex vivo* by chlorpromazine on hematopoiesis during aggression. Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry. 2023; 3 (120): 12-20. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-3\(120\)-12-20](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2023-3(120)-12-20)

Influence of immunocompetent cells modulated *ex vivo* by chlorpromazine on hematopoiesis during aggression

Markova E.V., Serenko E.V., Toporkova L.B., Knyazheva M.A., Savkin I.V., Goiman E.V., Orlovskaya I.A.

Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology" Yadrintsevskaya Street 14, 630099, Novosibirsk, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Prolonged stress, including chronic social stress, results in anxiety and aggressive or depression-like behavior. Neuroendocrine signals formed during prolonged social stress cause the activation of myelopoiesis, which is accompanied by increased migration of monocytes from the bone marrow to the periphery and the acquisition of an “inflammatory” M1-phenotype by them. Some of these monocytes also migrate to the brain, activating endothelial cells and microglia, which leads to the formation of a neuroinflammatory status and behavioral changes. Previously, we obtained priority data on the possibility of editing patterns of aggressive behavior by syngeneic immunocompetent cells modulated *ex vivo* with chlorpromazine and showed the cytokine-mediated mechanisms of this effect. **Objective:** assessment of bone marrow hematopoiesis and cellular composition of peripheral blood in experimental animals during the formation of aggressive behavior due to chronic social conflict and after its editing by syngeneic immunocompetent spleen cells modulated *ex vivo* with chlorpromazine. **Materials and Methods.** Male (CBA×C57Bl/6)F1 mice with aggressive behavior, formed as a result of 20-fold experience of victories in daily agonistic interactions with a passive partner, were transplanted with syngeneic spleen immunocompetent cells with functional activity modulated by chlorpromazine *ex vivo*. In aggressive mice and aggressive recipients, the number of bone marrow hematopoietic progenitors was assessed according to the recommendations of Stem Cell Technologies (Canada) as well as the cellular composition of peripheral blood. **Results.** In accordance with the data obtained from the studies, a significant increase in the bone marrow of the granulocytic-macrophage (CFU-GM) direction of hematopoietic stem cell differentiation in aggressive males (CBA×C57Bl/6)F1 was shown, which was accompanied by an increase in the peripheral blood of mice in populations of leukocytes, monocytes, segmented neutrophils and lymphocytes. Splenocytes isolated from aggressive donors (CBA×C57Bl/6)F1 and modulated *ex vivo* with chlorpromazine, after transplantation into syngeneic aggressive recipients, had a corrective effect on these parameters, reducing them almost to the level characteristic of intact animals of the corresponding age. The mechanisms of the hematopoiesis-correcting effect of immunocompetent spleen cells modulated by chlorpromazine in an aggressive state are discussed.

Keywords: experimental animals, aggressive behavior, immunocompetent cells, chlorpromazine, hematopoiesis, bone marrow, peripheral blood.

Received June 05, 2023

Accepted August 28, 2023

Markova Evgeniya V., D.Sc. (Medicine), Head of the Laboratory of Neuroimmunology, chief researcher of Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology"; chief researcher, Laboratory of Molecular Pathology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Novosibirsk State University", professor of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Novosibirsk State Pedagogical University". Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 58177556400. ResearcherID AAK-5322-2021. ORCID iD 0000-0002-9746-3751. Author ID RSCI 109914. SPIN-code RSCI 8439-7310.

Serenko Evgeny V., junior researcher of the Laboratory of Neuroimmunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 57325420800. ORCID iD 0000-0001-7807-3603. Author ID RSCI 1085958. SPIN-code RSCI 3197-7109.

Toporkova Lyudmila B., Cand.Sc. (Biology), senior researcher of Laboratory of Molecular Pathology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 6603328128. ORCID iD 0000-0001-7475-0830. Author ID RSCI 82784. SPIN-code RSCI 8915-8320.

Knyazheva Maria A., Cand.Sc. (Biology), junior researcher of Laboratory of Neuroimmunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 57221404169. ORCID iD 0000-0002-2537-8232. Author ID RSCI 703313. SPIN-code RSCI 8913-3798.

Savkin Ivan V., researcher of Laboratory of Neuroimmunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 6507473764. ResearcherID HSG-1191-023. ORCID iD 0000-0002-1065-9234. Author ID RSCI 117121. SPIN-code RSCI 8344-4247.

Goiman Elena V., Cand.Sc. (Biology), researcher of Laboratory of Experimental Immunotherapy, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 9845063100. ORCID iD 0000-0002-6443-6917. Author ID RSCI 607664. SPIN-code RSCI 6886-9372.

Orlovskaya Irina A., D.Sc. (Medicine), chief researcher of Laboratory of Molecular Pathology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of the Fundamental and Clinical Immunology", Novosibirsk, Russian Federation. Author ID Scopus 35513682400. ORCID iD 0000-0002-7425-4439. Author ID RSCI 128761. SPIN-code RSCI 2759-6633.

✉ Markova Evgeniya V., evgeniya_markova@mail.ru