

Скворцов Н.В., Роговская Н.Ю., Бельтюков П.П., Бабаков В.Н.

Влияние бактериального эндотоксина на уровень цитокинов секрета клеток нейробластомы человека линии SH-SY5Y

ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г. пос. Кузьмоловский, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Проблема выявления бактериальных липополисахаридов (ЛПС) в составе фармацевтических субстанций и реагентов сохраняет свою актуальность. Относительно недавно было показано, что TLR4-PTEN/PI3K/AKT/NF- κ B-сигнальный путь принимает участие в нейровоспалении в нейронах гиппокампа крысы после воздействия ЛПС *E. coli*. Можно сделать вывод, что существует связь между количеством ЛПС и его воздействием на синтез провоспалительных цитокинов / хемокинов и факторов роста в нейронах человека. Для подтверждения теории и поиска изменения уровня цитокинов / хемокинов на уровне белков в нашей работе была выбрана клеточная культура нейробластомы человека линии SH-SY5Y как одна из наиболее изученных нейрональных моделей.

Цель исследования – анализ секрета (цитокинов / хемокинов и факторов роста), участвующего в запуске синтеза цитокинов в нейронах из культуры нейробластомы SH-SY5Y после внесения ЛПС *Salmonella typhosa*.

Материал и методы. Для определения содержания цитокинов / хемокинов и факторов роста в клетках культуры нейробластомы SH-SY5Y после воздействия ЛПС использовали многопараметрический иммунофлуоресцентный метод. Потенциальные маркеры определяли методами статистического анализа.

Результаты. Воздействие ЛПС из *Salmonella typhosa* на культуру клеток нейробластомы SH-SY5Y привело к изменениям в секреции цитокинов / хемокинов на уровне белков в период с первого по четвертый день после введения ЛПС.

Ограничения исследования. Исследование *in vitro* на культуре клеток показало зависимость цитокинового / хемокинового секрета от исследуемых соединений, но результаты нельзя экстраполировать на живой организм.

Заключение. Наличие дозозависимых эффектов воздействия бактериальных эндотоксинов на клеточные культуры позволяет рассматривать «определение уровней маркерных цитокинов» в качестве возможного метода для количественного анализа уровня ЛПС.

Ключевые слова: бактериальный эндотоксин; ЛПС; нейробластома человека линии SH-SY5Y; секретом; многопараметрический иммунофлуоресцентный метод

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Скворцов Н.В., Роговская Н.Ю., Бельтюков П.П., Бабаков В.Н. Влияние бактериального эндотоксина на уровень цитокинов секрета клеток нейробластомы человека линии SH-SY5Y. *Токсикологический вестник*. 2025; 33(5): 328–336. <https://elibrary.ru/tswsvp> <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-5-328-336>

Для корреспонденции: Скворцов Никита Владиславович, e-mail: aelu@yandex.ru

Участие авторов: Скворцов Н.В. – анализ материала и обработка данных, написание текста; Роговская Н.Ю. – сбор материала, написание текста, статистическая обработка; Бельтюков П.П. – обработка и интерпретация данных, редактирование текста; Бабаков В.Н. – концепция и дизайн исследования, редактирование. *Все соавторы* – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Nikita V. Skvortsov, Nadezhda Yu. Rogovskaya, Petr P. Belyukov, Vladimir N. Babakov

The effect of bacterial endotoxin on the level of cytokines in the secretome of human neuroblastoma cells of the SH-SY5Y line

Scientific Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Leningrad Region, Kuzmolovsky urban settlement, 188663, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The problem of identifying bacterial lipopolysaccharides (LPS) in pharmaceutical substances and reagents remains relevant. Recently, it was shown that the TLR4-PTEN/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway participates in neuroinflammation in rat hippocampal neurons after exposure to *E. coli* LPS. It can be concluded that there is a relationship between the amount of LPS and its effect on the synthesis of pro-inflammatory cytokines, chemokines, and growth factors in human neurons. To confirm the theory and to search for changes in cytokine/chemokines levels at the protein level, we selected the SH-SY5Y human neuroblastoma cell culture as one of the most studied neural models.

The aim of the study was to analyze the secretome (cytokines / chemokines, and growth factors) involved in triggering cytokine synthesis in neurons from the culture of neuroblastoma SH-SY5Y after the action of lipopolysaccharides *Salmonella typhosa*.

Material and methods. To evaluate the concentrations of cytokines / chemokines, and growth factors in SH-SY5Y neuroblastoma culture cells after exposure to LPS, we utilized a multi-parameter immunofluorescence method. Potential biomarkers were identified through statistical data analysis methods.

Results. The effect of LPS from *Salmonella typhosa* on neuroblastoma SH-SY5Y cell culture led to changes in cytokine / chemokine secretion at the protein level from the first to the fourth day after LPS administration.

Limitations. An *in vitro* study on cell culture has shown the dependence of the cytokine/chemokine secretome on the studied compounds, but the results cannot be extrapolated to a living organism.

Conclusion. The presence of dose-dependent effects of bacterial endotoxins on cell cultures allows us to consider “determination of marker cytokine levels” as a possible method for quantitative analysis of LPS levels.

Keywords: bacterial endotoxin; LPS; human neuroblastoma of the SH-SY5Y line; secretome; multiparametric immunofluorescence method

Compliance with ethical standards. The study does not require the submission of a biomedical ethics committee opinion or other documents.

For citation: Skvortsov N.V., Rogovskaya N.Yu., Belyukov P.P., Babakov V.N. The effect of bacterial endotoxin on the level of cytokines in the secretome of human neuroblastoma cells of the SH-SY5Y line. *Toxicologicheskiy vestnik / Toxicological Review*. 2025; 33(5): 328–336. <https://elibrary.ru/tswsvp> <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-5-328-336>

For correspondence: Nikita V. Skvortsov, e-mail: aelu@yandex.ru

Contributions: Skvortsov N.V. – collection and processing of material, writing a text; Rogovskaya N.Yu. – collection of material, statistical processing, writing a text; Belyukov P.P. – data processing and interpretation, text editing; Babakov V.N. – the concept and design of the study, editing. All co-authors are responsible for approving the final version of the article and ensuring the integrity of all parts of the article.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: August 21, 2025 / Revised: September 9, 2025 / Accepted: October 2, 2025 / Published: November 19, 2025

Введение

Проблема выявления бактериальных липополисахаридов (ЛПС) в составе фармацевтических субстанций и реагентов сохраняет свою актуальность, поскольку применение бактериальных продуцентов в производстве некоторых биотехнологических продуктов требует обеспечения жёсткого контроля пирогенности.

В соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи 2.1.6.8 «Бактериальные эндотоксины», для количественного анализа содержания ЛПС применяют метод, основанный на специфической биологической активности лизата амёбоцитов [1]. Этот подход, характеризующийся высокой чувствительностью, позволяет обеспечить оценку безопасности исследуемой субстанции по уровню эндотоксинов, что является критически важным для обеспечения соответствия продукции международным стандартам качества и безопасности. Однако данный метод характеризуется рядом ограничений. Он применим для оценки пирогенности водных сред на этапе финишной очистки препаратов и простых буферных растворов. Существуют альтернативные подходы к детекции бактериальных эндотоксинов. Среди них можно выделить наборы PyroGene™, EndoZyme® и EndoLisa®, а также методы Endotoxin Activity Assay (EAA) и метод активированных частиц (МАЧ) Endotox. Каждый из упомянутых методов обладает уникальными характеристиками, что позволяет использовать их в различных сферах научных и практических исследований. Например, EAA и МАЧ Endotox широко применяют в клинической диагностике, обеспечивая высокую точность и надёжность при выявлении эндотоксинов в биологических жидкостях. В то же время наборы PyroGene™, EndoZyme® и EndoLisa® демонстрируют высокую эффективность при анализе фармацевтических субстанций [2].

Встречаются и альтернативные методы обнаружения эндотоксинов с использованием клеточных линий, таких как НЕК-Blue (LPS Detection Kit, InvivoGen, США) или, например, EAA (Endotoxin Activity Assay, Spectral Diagnostics Inc., Канада), когда в реакции участвуют собственные нейтрофилы анализируемого образца крови. [3]. Хотя такие методы имеют ряд достоинств, у каждого из них есть свои методические ограничения. Отсутствие универсального теста, пригодного для решения задач количественного определения бактериального эндотоксина, является одной из причин разработки новых методов оценки безопасности фармацевтических субстанций. Исходя из этих соображений, сохраняется потребность в поиске новых методов оценки количества ЛПС.

Известно, что ЛПС (*E. coli*, O111:B4) обладает нейротоксичностью [4]. Активация микроглии эндотоксинами (*E. coli*) вызывает продукцию широкого спектра цитотоксических факторов, в том числе фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкин-1 β (IL-1 β), эйкозаноидов, оксида азота (NO) и активных форм кислорода (АФК), которые влияют на нейроны и вызывают нейродегенерацию [5–8]. ЛПС (*E. coli* O26:B6, *E. coli* O111:B4) помимо увеличения синтеза медиаторов воспаления, способствуют повышению синтеза хемокинов, свободных радикалов, НАДФН-оксидазы, миелопероксидазы и индуцибельной NO-синтазы (iNOS), а также активации каскада арахидоновой кислоты [9–10].

Несмотря на то, что активация микроглии необходима для защиты организма, сверхактивация микроглии способствует развитию нейротоксичности [11–12]. При этом воспаление и активация микроглии являются составляющими патогенеза ряда нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП), болезнь Гентингтона, рассеянный склероз и боковой амиотрофический склероз [13].

Известно, что система врождённого иммунитета распознаёт болезнетворные микроорганизмы посредством клеточных Toll like-рецепторов (TLRs). Семейство TLR составляет один из основных классов паттерн-распознающих рецепторов, которые играют центральную роль в иницировании врождённого и, в последствии, адаптивного иммунного ответа [14]. В астроцитах человека отмечается активная экспрессия различных TLRs, причем активация системы врождённого иммунитета в ЦНС является причиной нейродегенерации через активацию TLR4-зависимого пути. Именно TLR4 связывает ЛПС клеточной стенки бактерий и является одним из древнейших в системе антибактериальной защиты организма [8]. Взаимодействие ЛПС (*E. coli* O111:B4) с TLR4 приводит к активации NF- κ B/MAP-сигнального пути и стимулирует экспрессию интерферона- β и генов цитокинов, таких как TNF- α , IP-10 и RANTES [15–16].

Относительно недавно было установлено, что TLR4-PTEN/PI3K/AKT/NF- κ B-сигнальный путь принимает участие в нейровоспалении в нейронах гиппокампа крысы после воздействия ЛПС (*E. coli*), причём NF- κ B перемещается в ядро, что вызывает активацию экспрессии TNF- α и IL-1 β [17]. Кроме того, метод RT-PCR показал, что внутривентрикулярное введение ЛПС (*E. coli* O127:B8) мыши (ЛПС, 10 мкг/мышь) вызывает увеличение

синтеза мРНК ряду провоспалительных цитокинов: IL-1/3, IL-6 и TNF- α в селезёнке, гипофизе, гипоталамусе и гиппокампе [18].

Можно сделать вывод, что существует связь между количеством ЛПС и его воздействием на синтез провоспалительных цитокинов, хемокинов и факторов роста в нейронах человека.

Одной из наиболее изученных нейрональных моделей является клеточная культура нейробластомы человека линии SH-SY5Y. Известно, что клеточная культура нейробластомы SH-SY5Y представляет собой сублинию линии SK-N-SH, первоначально выделенную из биоптата костного мозга нейробластомы в начале 1970-х гг. [19]. Линию SH-SY5Y широко используют в качестве модели нейронов с 1980-х гг., поскольку её клетки характеризуются наличием ряда биохимических и функциональных свойств, присущих нейронам. Среди нейрональных маркеров в клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y регистрируют активность ферментов – тирозин и дофамин- β -гидроксилазы, синтез норадреналина, также эти клетки экспрессируют белки нейрофиламентов, опиоидные, мускариновые рецепторы и рецепторы фактора роста нервов. Кроме того, известно, что клеточная линия нейробластомы SH-SY5Y представляет собой гомогенную нейробластоподобную линию с нейрональным фенотипом. Все вышеуказанные особенности линии нейробластомы SH-SY5Y позволяют использовать её в качестве клеточной модели развития нейровоспаления *in vitro* для изучения цитокинового профиля в нейронах человека.

На культуре клеток нейробластомы SH-SY5Y ранее было показано, что длительное инкубирование дифференцированных клеток нейробластом SH-SY5Y с липополисахаридами приводит к увеличению синтеза фосфодиэстеразы 4B, Slit gobo GTPase репрессора транскрипции E2F-6, виментина и Mortalin/HSPA9 [20]. В то же время неизвестно, какие изменения происходят в синтезе компонентов TLR4-зависимого сигнального пути, а также провоспалительных цитокинов в нейронах человека. Поэтому *цель настоящей работы* – анализ секрета (цитокинов / хемокинов и факторов роста), участвующего в запуске синтеза цитокинов в нейронах из культуры нейробластомы SH-SY5Y после действия ЛПС *Salmonella typhosa*. Это может стать потенциальным альтернативным методом определения бактериального эндотоксина.

Для того чтобы количественно оценить уровень экспрессии цитокинов/хемокинов у клеток линии SH-SY5Y использовали многопараметрический иммунофлуоресцентный анализ для определения цитокинов по технологии Luminex xMAP.

Материал и методы

Материалом исследования послужили клетки недифференцированной нейробластомы человека линии SH-SY5Y (ECACC).

Культивирование клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y. Клетки линии SH-SY5Y (ECACC) культивировали в 6-луночном планшете в стандартной среде DMEM/F12 (Gibco, США), содержащей 10 % FBS (Gibco, США), пенициллин/стрептомицин (Sigma, США). Для повышения чувствительности во всех лунках кроме «нулевого» контроля проводили предобработку с использованием среды, содержащей 10 нг/мл ЛПС *Salmonella typhosa* (L7895). В контрольные лунки добавляли среду без ЛПС. Затем клетки промывали, добавляли среду с разным содержанием ЛПС: 0 (контроль), 10 нг/мл, 100 нг/мл и 1 мкг/мл и инкубировали 4 дня. Ежедневно отбирали небольшие аликваты – 100 мкл – для оценки изменения содержания цитокинов/хемокинов/факторов роста в кондиционной среде.

Многопараметрический иммунофлуоресцентный метод оценки содержания белка. Концентрации 48 белков цитокинов, хемокинов и факторов роста в кондиционных средах нейробластомы SH-SY5Y определяли с использованием наборов Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex, Bio-Plex Pro Human Cytokine 21-plex (Bio-Rad, США). Активность 9 ключевых элементов внутриклеточных киназных сигнальных каскадов в клеточных лизатах нейробластомы SH-SY5Y определяли с помощью набора: Human Multi-Pathway magnetic bead panel 9-plex Kit (Millipore, США). Для работы с наборами использовали иммунофлуоресцентный анализатор «Bio-Plex 200» (Bio-Rad, США) согласно рекомендациям производителя. Измерения проводили в 4 независимых экспериментах.

Статистическая обработка. Для анализа содержания белка 48 цитокинов из набора Bio-Plex Pro Human Cytokine 27-plex и 21-plex использовали тест Тьюки с помощью ПО Prism 5.04.

Результаты

Для оценки цитокинового/хемокинового секрета в клетках культуры нейробластомы SH-SY5Y после воздействия ЛПС выявлены изменения концентраций 48 цитокинов, хемокинов и факторов роста, с использованием иммунофлуоресцентного метода. К числу общих маркеров воспаления относили 27 цитокинов, хемокинов и факторов роста, среди которых: IL-1 α , IL-3, IL-16, IL-8, LIF, IFN- α 2, M-CSF (CSF1), GM-CSF (CSF2), G-CSF3 (CSF3), IFN- γ , IL-10, IL-13, IL-15, IL-17,

IL-18, IL-1 β , IL-2R α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, TNF- β , TNF- α , TRAIL и VEGF.

Оценка содержания цитокинов/хемокинов и факторов роста в клетках культуры нейробластомы SH-SY5Y после ЛПС (многопараметрический иммунофлуоресцентный метод).

Исследование 48 цитокинов, хемокинов и факторов роста в клетках культуры SH-SY5Y после воздействия ЛПС в концентрациях 0 (контроль), 10 нг/мл, 100 нг/мл и 1 мкг/мл показало значимые различия по сравнению с контрольной группой. В 18 из 48 анализируемых показателей были обнаружены значимые изменения.

Концентрации 30 цитокинов (FGF-basic, Eotaxin, M-CSF, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL12 (p40), IL12 (p70), IL-13, IL17, IL18, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, TNF- α , VEGF, MCP-3, MIG, SCGF- β , SDF-1 α , MIF) не меняются при инкубации клеток с ЛПС в исследованных концентрациях (концентрации ЛПС не являются анализируемыми, они создавались искусственно в ходе эксперимента).

В аликвотах, полученных из образцов, инкубированных в присутствии ЛПС, концентрации 10 нг/мл, 100 нг/мл и 1 мкг/мл в ряде случаев статистически значимо возросли. Так, для IL-8 рост концентрации зарегистрирован уже через сутки инкубирования в присутствии ЛПС в дозах 100 нг/мл и 1 мкг/мл. Через 48 ч при добавлении ЛПС в концентрации 10 нг/мл исследуемой культуре клеток возрастает содержание IL-15, такая же тенденция для IP-10 и RANTES, но при концентрациях 100 нг/мл и 1 мкг/мл. Через 96 ч наблюдали увеличение количества MCP-1 после добавления ЛПС в концентрациях 100 нг/мл и 1 мкг/мл.

Через 96 ч инкубации клеток нейробластомы SH-SY5Y с ЛПС наблюдали снижение концентраций ряда цитокинов и хемокинов по сравнению с контролем: IL-1 α , HGF, IL2R α , IL3, IL16, STACK, GRO α , IFN- α 2, LIF, NGF- β , SCF, TNF- β и TRAIL.

Таким образом, в клетках нейробластомы SH-SY5Y зарегистрировано как увеличение, так и снижение ряда цитокинов, начиная с 1-х суток инкубации с ЛПС, в случае IL-8, в то же время более глобальные изменения в цитокиновом секрете в исследуемой культуре клеток нарастают к 4-м суткам инкубации с ЛПС.

Применение методики оценки цитокинового профиля клеток нейробластомы SH-SY5Y позволил выявить увеличение уровня IL-8 на 1-й день после добавления в среду бактериального эндотоксина в концентрации 100 нг/мл и 1 мкг/мл.

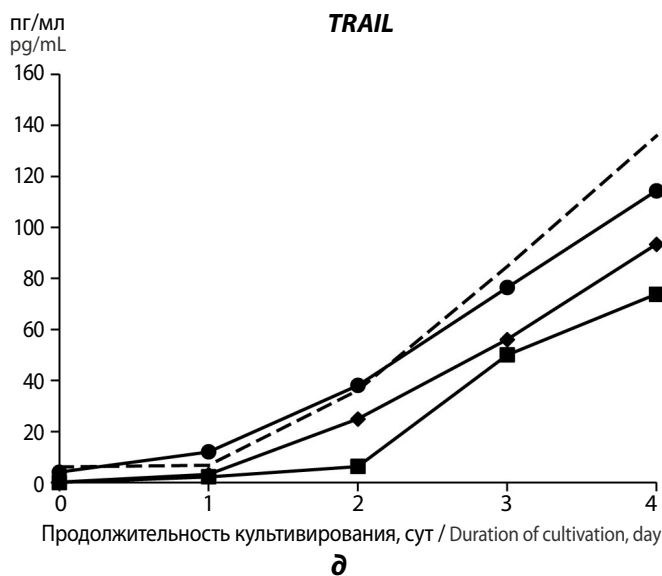
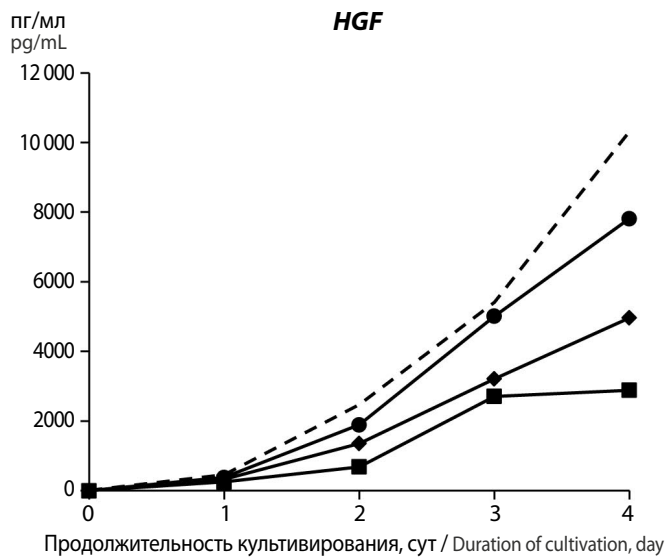
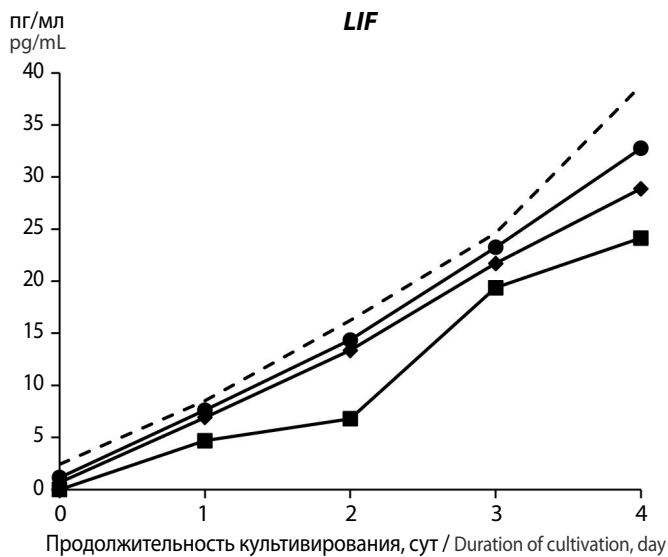
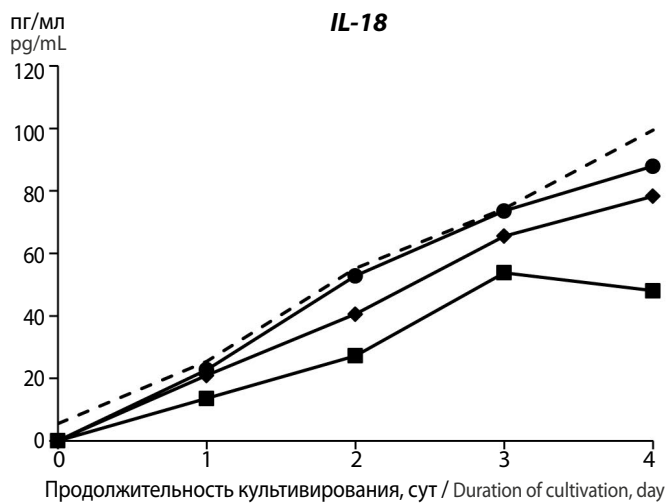
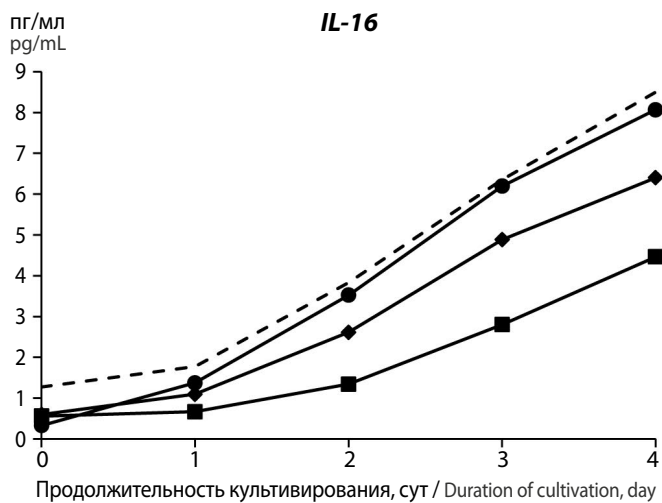
Обсуждение

Врожденный иммунитет обеспечивает первую линию обороны хозяина против большого разнообразия патогенов, для её работы необходимо согласованное взаимодействие различных клеточных популяций. К резидентам врожденного иммунного ответа в мозге, обуславливающим нейровоспаление, традиционно относят клетки микроглии и астроглии, которые, как было показано, вырабатывают ряд медиаторов воспаления и факторов роста, необходимых для поддержания нормального функционирования ЦНС [21]. Данные относительно функционирования нейронов в развитии иммунного ответа в ЦНС довольно мало, в связи с этим их роль в нейровоспалении до сих пор обсуждается. В настоящем исследовании на модели нейронов нейробластомы SH-SY5Y *in vitro* проведена комплексная оценка продукции цитокинового/хемокинового секрета, принимающего участие в активации синтеза медиаторов воспаления, а также маркеров раннего апоптоза (TNF- β , TNF- α , IL-10, IL-1) после воздействия ЛПС. Показано участие нейронов человека *in vitro* в развитии системной воспалительной реакции в ответ на действие ЛПС на модели нейробластомы SH-SY5Y.

Известно, что ЛПС запускает воспаление, а чрезмерная концентрация бактериальных эндотоксинов приводит к септическому шоку. В настоящее время очевидно, что сепсис представляет собой системный воспалительный ответ, индуцируемый не только комплексом токсических соединений, присущих бактериальной клетке, но и синтезом медиаторов воспаления, обладающих взаимопотенцирующим действием. Скоординированное функционирование факторов клеточного иммунитета в большинстве случаев обуславливает элиминацию патогена, однако различного рода нарушения приводят к развитию септического поражения, а в случае нервной системы – к нейровоспалению или нейропатии.

Изменения экспрессии зарегистрированы нами в нейронах на модели нейробластомы SH-SY5Y после добавления ЛПС к культуре клеток.

Известно, что продукция IL-6, индуцируемая при активации NF- κ B, приводит к системным признакам воспаления [22]. В то же время продукция IL-6 в исследуемой нами культуре клеток не изменялась после добавления ЛПС во всех анализируемых концентрациях. Вероятно, это указывает на существование в нейронах разных механизмов развития воспалительного процесса, которые не связаны с участием этого цитокина.



--- Контроль / Control
 ◆ 10 нг/мл (ng/mL)
 ● 100 нг/мл (ng/mL)
 ■ 1 мкг/мл (µg/mL)

Динамика изменений продукции IL-16 (а), IL-18 (б), LIF (в), HGF (г), TRAIL (д), в культуре нейробластомы SH-SY5Y после действия ЛПС в концентрациях 10 нг/мл, 100 нг/мл и 1 мкг/мл.

Dynamics of changes in IL-16 (a), IL-18 (б), LIF (в), HGF (г), TRAIL (д), production in SH-SY5Y neuroblastoma culture after the action of LPS at concentrations of 10 ng/mL, 100 ng/mL and 1 µg/mL.

In vitro было показано, что в клетках микроглии и моноцитах через активацию $\text{A}\beta$ отмечают экспрессию ряда белков, содержание которых повышено у пациентов с болезнью Альцгеймера, среди них: IL-10 [23], IL-8 [24], IL-6 и MCP-1 [25]. Повышение содержания белка IP-10, IL-8 и MCP-1 также зарегистрировано нами в культуре нейробластомы SH-SY5Y. В то же время при вступлении клеток нейробластомы SH-SY5Y в дифференцировку регистрируют увеличение продукции MCP-1 и снижение IL-12 и VEGF [26]. Этот эффект, по-видимому, обусловлен тем, что MCP-1 выполняет двойственную функцию в процессе жизнедеятельности нейрона и находится на перекрёстке различных сигнальных путей. Экспрессия RANTES была выявлена в клетках эндотелия микрососудов. Считается, что RANTES выполняет нейропротективную роль при БА и уменьшает активацию воспаления [27]. Кроме того, продемонстрировано, что усиление экспрессии RANTES через активацию PI3K и MAPK выполняет нейропротективную функцию в первичной культуре астроцитов и кортикальных нейронов [28]. Результаты, полученные с применением иммунофлуоресцентного анализа, свидетельствуют о значительном повышении уровня RANTES в культуре нейронов, полученных из нейробластомы линии SH-SY5Y. Это может указывать на активацию в клетках нейрональной культуры защитных механизмов, направленных на обеспечение их выживаемости после воздействия ЛПС.

В то же время воздействие ЛПС на культуру нейрональных клеток из нейробластомы SH-SY5Y снижает продукцию фактора роста HGF, выполняющего функцию нейропротектора. Методом иммунофлуоресцентного анализа на исследуемой модели клеток на 4-й день культивирования показано снижение содержания белка HGF после воздействия ЛПС в концентрациях 100 нг/мл и 1 мкг/мл. К функциям HGF относится усиление миграции и дифференцировки клеток-предшественников олигодендроцитов, продуцирующих миелин [29, 30]. На животных моделях множественного склероза показано, что дополнительное введение HGF стимулирует ремиелинизацию [31]. Кроме того, HGF проявляет выраженные иммуномодулирующие свойства [32].

Продemonстрировано дозозависимое снижение концентраций интерлейкинов IL-16 (лимфоактина; рис. 1, а) и IL-18 (интерферон-гамма-индуцирующего фактора) (рис. 1, б) на протяжении всех дней наблюдения под воздействием ЛПС (*Salmonella typhosa*). IL-16 является хемокином, привлекающим определённые типы иммунных

клеток в очаг воспаления, а IL-18 представляет собой провоспалительный цитокин. Он играет важную роль в регуляции как врождённого, так и адаптивного иммунного ответа, а также участвует в защите организма от инфекций [33].

Кроме того, в исследуемой нами культуре клеток выявлено дозозависимое снижение провоспалительного цитокина LIF (фактор ингибирования лейкемии; рис. 1, в). LIF имеет общие механизмы передачи сигналов (JAK/STAT, MAPK и PI3K), может оказывать воздействие на разные типы клеток, стимулируя или подавляя их пролиферацию, дифференцировку и выживаемость. Считается, что LIF играет важную роль в развитии нервной системы [34].

Результаты исследования показали, что введение ЛПС (*Salmonella typhosa*) в клеточную культуру нейробластомы SH-SY5Y приводит к выраженному и последовательному ингибированию синтеза фактора роста гепатоцитов (HGF) (рис. 1, г). HGF представляет собой многофункциональный цитокин, оказывающий воздействие на различные эпителиальные клеточные популяции. Он регулирует их пролиферацию, миграцию, морфогенез и процессы регенерации тканей в повреждённых органах [35].

Дозозависимый эффект влияния эндотоксина выявлен для цитокина TRAIL (рис. 1, д), который относится к семейству факторов некроза опухоли (TNF) и является важным компонентом иммунной системы, избирательно уничтожающий трансформированные и аномальные клетки путём апоптоза после связывания с рецепторами смерти (DRs) DR4 или DR5. В отличие от лигандов TNF и FAS, TRAIL — единственный природный цитокин, который вызывает апоптоз в трансформированных клетках без существенной токсичности для нормальных тканей [36].

Ограничения исследования. Исследование *in vitro* на культуре клеток показало зависимость цитокинового/хемокинового секрета от исследуемых соединений, но результаты нельзя экстраполировать на живой организм.

Заключение

Воздействие ЛПС из *Salmonella typhosa* на культуру клеток нейробластомы SH-SY5Y привело к изменениям в секреции цитокинов и хемокинов на уровне белков в период с первого по четвёртый день после введения ЛПС. Наличие дозозависимых эффектов воздействия бактериальных эндотоксинов на клеточные культуры позволяет рассматривать «определение уровней маркерных цитокинов» в качестве возможного метода для количественного анализа уровня ЛПС.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 4–21, 23–36 см. в References)

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. ОФС.1.2.4.0006.15. Бактериальные эндотоксины. М.: ФЭМБ, 2015. 2. 2.
2. Копицына М.Н., Морозов А.С., Бессонов И.В., Писарев В.М. Методы определения бактериального эндотоксина в медицине критических состояний (обзор). *Общая реаниматология*. 2017; 13(5): 109–20. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2017-5-109-120>
3. Русанова Е.В., Ниязатов А.Г., Протас И.М. Роль эндотоксина в развитии гнойно-септических заболеваний и методы его выявления в крови. *Альманах клинической медицины*. 2013; 29: 70–3.
22. Ильин А.А., Дебердеева К.И., Волков К.А., Симакова В.О., Булатова А.Ю., Богданова Т.М. Интерлейкин-6: патофизиология, диагностическое значение. *Современные проблемы науки и образования*. 2025; 4: 80. <https://doi.org/10.17513/spno.34160> (In Russian)

REFERENCES

1. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. OFS.1.2.4.0006.15. Bacterial endotoxins. [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izd. OFS.1.2.4.0006.15. Bakterial'nye endotoksiny]. Moscow: FEMB, 2015. 1469 (In Russian)
2. Kopitsyna M.N., Morozov A.S., Bessonov I.V., Pisarev V.M. Methods for Detection of Bacterial Endotoxin in Critical Care Medicine. *Obshchaya reanimatologiya*. 2017; 13(5): 109–20. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2017-5-109-120> (In Russian)
3. Rusanova E.V., Niyazmatov A.G., Protas I.M. The role of endotoxin in development of suppurative-septic diseases and methods of endotoxin level determination in blood. *Al' manax klinicheskoy mediciny*. 2013; 29: 70–3. <https://doi.org/10.21518/akh2023-029> (In Russian)
4. Ganz T., Fainstein N., Elad A. et al. Microbial pathogens induce neurodegeneration in Alzheimer's disease mice: protection by microglial regulation. *J Neuroinflammation*. 2022; 19(1): 5. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02369-8>
5. Qin J., Ma Z., Chen X., Shu S. Microglia activation in central nervous system disorders: A review of recent mechanistic investigations and development efforts. *Frontiers in Neurology*. 2023; 14: 1103416. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1103416>
6. Lively S., Schlichter L.C. (2018) Microglia Responses to Pro-inflammatory Stimuli (LPS, IFN γ +TNF α) and Reprogramming by Resolving Cytokines (IL-4, IL-10). *Front. Cell. Neurosci*. 2018; 12: 215. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00215>
7. Lull M.E., Block M.L. Microglial activation and chronic neurodegeneration. *Neurotherapeutics* 2010; 7: 354–65. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.014>
8. Kipp M., Norkute A., Johann S. et al. Brain-region-specific astroglial responses *in vitro* after LPS exposure. *J Mol Neurosci*. 2008; 35(2): 235–43. <https://doi.org/10.1007/s12031-008-9057-7>
9. Koppula S., Kumar H., Kim I.S., Choi D.K. Reactive oxygen species and inhibitors of inflammatory enzymes, NADPH oxidase, and iNOS in experimental models of Parkinson's disease. *Mediators Inflamm*. 2012; 823902. <https://doi.org/10.1155/2012/823902>
10. Himaya S.W., Ryu B., Qian Z.J., Kim S.K. Paeonol from Hippocampus kuda Bleeler suppressed the neuro-inflammatory responses *in vitro* via NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Toxicol In Vitro*. 2012; 26(6): 878–87. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.04.022>
11. Qin J., Ma Z., Chen X., Shu S. Microglia activation in central nervous system disorders: A review of recent mechanistic investigations and development efforts. *Frontiers in Neurology*. 2023; 14: 1103416. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1103416>
12. Muzio L., Viotti A., Martino G. Microglia in Neuroinflammation and Neurodegeneration: From Understanding to Therapy. *Frontiers in Neurosciences*. 2021; 15: 742065. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.742065>
13. Nguyen M.D., Julien J.P., Rivest S. Innate immunity: the missing link in neuroprotection and neurodegeneration? *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3: 216–27.
14. Lester S.N., Li K. Toll-like receptors in antiviral innate immunity. *J Mol Biol*. 2014; 426(6): 1246–64. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.11.024>
15. Shen L., Xiao Y., Wu Q., Liu L., Zhang C., Pan X. TLR4/NF- κ B axis signaling pathway-dependent up-regulation of miR-625-5p contributes to human intervertebral disc degeneration by targeting COL1A1. *Am J Transl Res*. 2019; 11(3): 1374–88.
16. Zhang G., Ghosh S. Toll-like receptor-mediated NF- κ B activation: a phylogenetically conserved paradigm in innate immunity. *J Clin Invest*. 2001; 107(1): 13–9. <https://doi.org/10.1172/JCI11837>
17. Gao K., Yi Y., Xue Z. et al. Downregulation of XBP1s aggravates lipopolysaccharide-induced inflammation by promoting NF- κ B and NLRP3 pathways' activation in goat endometrial epithelial cells. *Theriogenology*. 2023; 210: 119–32. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.07.014>
18. Layé S., Parnet P., Goujon E., Dantzer R. Peripheral administration of lipopolysaccharide induces the expression of cytokine transcripts in the brain and pituitary of mice. *Brain Res Mol Brain Res*. 1994; 27(1): 15762. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(94\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0169-328x(94)90197-x)
19. Biedler J.L., Helson L., Spengler B.A. Morphology and growth, tumorigenicity, and cytogenetics of human neuroblastoma cells in continuous culture. *Cancer Res*. 1973; 33(11): 2643–52.
20. Das N.D., Choi M.R., Jung K.H. et al. Lipopolysaccharide-mediated protein expression profiling on neuronal differentiated SH-SY5Y cells. *Bio Chip J*. 2012; 6: 165–73. <https://doi.org/10.1007/s13206-012-6209-1>
21. Adamu A., Li S., Gao F., Xue G. The role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases: current understanding and future therapeutic targets. *Front Aging Neurosci*. 2024; 16: 1347987. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1347987>
22. Ilyin A.A., Deberdееva K.I., Volkov K.A., Simakova V.O., Bulatova A.Yu., Bogdanova T.M. Interleukin-6: pathophysiology, diagnostic significance. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2025; 4: 80. <https://doi.org/10.17513/spno.34160> (In Russian)
23. Meda L., Baron P., Prat E. et al. Proinflammatory profile of cytokine production by human monocytes and murine microglia stimulated with beta-amyloid[25-35]. *J Neuroimmunol*. 1999; 93(1–2): 45–52. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(98\)00188-x](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(98)00188-x)
24. Meda L., Bonaiuto C., Szendrei G.I., Ceska M., Rossi F., Cassatella M.A. Beta-Amyloid (25-35) induces the production of interleukin-8 from human monocytes. *J Neuroimmunol*. 1995; 59(1–2): 29–33. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(95\)00021-s](https://doi.org/10.1016/0165-5728(95)00021-s)
25. Heneka M.T., Carson M.J., El Khoury J. et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2015; 14(4): 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
26. Rogovskaya N., Beltiukov P., Radilov A., Rembovsky V., Babakov V. Profiling of human neuroblastoma SH-SY5Y cells cytokines/chemokines secretome by Luminex xMAP multiplex assay. *FEBS Journal*. 2013; 280(1): 492.
27. Tripathy D., Thirumangalakudi L., Grammas P. RANTES upregulation in the Alzheimer's disease brain: a possible neuroprotective role. *Neurobiol Aging*. 2010; 31(1): 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.009>
28. Lin M.S., Hung K.S., Chiu W.T. et al. Curcumin enhances neuronal survival in N-methyl-D-aspartic acid toxicity by inducing RANTES expression in astrocytes via PI-3K and MAPK signaling pathways. *Prog Neuro-psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011; 35(4): 931–8. <https://doi.org/10.1016/j.pnpb.2010.10.022>
29. Lalive P.H., Paglinawan R., Biollaz G. et al. TGF- β -treated microglia induce oligodendrocyte precursor cell chemotaxis through the HGF-c-Met pathway. *Eur J Immunol*. 2005; 35(3): 727–37. <https://doi.org/10.1002/eji.200425430>
30. Kitamura K., Iwanami A., Nakamura M. et al. Hepatocyte growth factor promotes endogenous repair and functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci Res*. 2007; 85(11): 2332–42. <https://doi.org/10.1002/jnr.21372>
31. Müller A.M., Jun E., Conlon H., Sadiq S.A. Cerebrospinal hepatocyte growth factor levels correlate negatively with disease activity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2012; 251(1–2): 80–6. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2012.06.008>
32. Molnarfi N., Benkhoucha M., Bjarnadóttir K., Juillard C., Lalive P.H. Interferon- β induces hepatocyte growth factor in monocytes of multiple sclerosis patients. *PLoS One*. 2012; 7(11): e49882. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049882>
33. Ihim S.A., Abubakar S.D., Zian Z. et al. Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: Biological role in induction, regulation, and treatment. *Front Immunol*. 2022; 13: 919973. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.919973>
34. Nicola N.A., Babon J.J. Leukemia inhibitory factor (LIF). *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015; 26(5): 533–44. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2015.07.001>
35. Zhao Y., Ye W., Wang Y.D., Chen W.D. HGF/c-Met: A Key Promoter in Liver Regeneration. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 808855. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.808855>
36. Yagolovich A.V., Gasparian M.E., Isakova A.A., Artykov A.A., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P., Cytokine TRAIL death receptor agonists: design strategies and clinical prospects. *Russian Chemical Reviews*. 2025; 94: 2. <https://doi.org/10.59761/RCSR5154>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Скворцов Никита Владиславович – научный сотрудник, ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г. пос. Кузьмоловский, Россия. E-mail: aeli@yandex.ru

Роговская Надежда Юрьевна – научный сотрудник, ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г. пос. Кузьмоловский, Россия. E-mail: nadin-r@mail.ru

Бельтюков Петр Петрович – кандидат мед. наук, ведущий научный сотрудник, ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г. пос. Кузьмоловский, Россия. E-mail: beltiukov@gpoch.ru

Бабаков Владимир Николаевич – кандидат биол. наук, заведующий лабораторией № 63, ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, 188663, Ленинградская область, г. пос. Кузьмоловский, Россия. E-mail: babakov@gpoch.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Nikita V. Skvortsov – Researcher, Scientific Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, 188663, Leningrad region, Kuzmolovsky urban settlement, 188663, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7953-7630> E-mail: aelu@yandex.ru

Nadezhda Yu. Rogovskaya – Researcher, Scientific Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, 188663, Leningrad region, Kuzmolovsky urban settlement, 188663, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-7054-6100> E-mail: nadin-r@mail.ru

Petr P. Beltyukov – Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher, Scientific Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Leningrad region, Kuzmolovsky urban settlement, 188663, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-4050-6172> E-mail: beltyukov@gpech.ru

Vladimir N. Babakov – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory, Scientific Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology of the Federal Medical Biological Agency of Russia, Leningrad region, Kuzmolovsky settlement, 188663, Russian Federation. E-mail: babakov@gpech.ru

