
СОДЕРЖАНИЕ

Том 38, номер 2, 2021

Обзоры

- Предполагаемая роль m6A-метилирования РНК в консолидации памяти
Д. А. Новиков, А. П. Белецкий, П. М. Колосов 99
- Роль транскрипционного фактора NF-κB в нейровоспалении
И. И. Бабкина, С. П. Сергеева, Л. Р. Горбачева 111
- Нейрохимические механизмы патогенеза и фармакологическая коррекция расстройств аутистического спектра: современные представления и перспективы
А. А. Алымов, И. Г. Капица, Т. А. Воронина 127
-

Теоретические работы

- Роль гипоталамуса в формировании нейронных отображений ассоциаций объект–место в гиппокампе при бодрствовании и парадоксальном сне
И. Г. Силькис 139
-

Экспериментальные работы

- Особенности свободнорадикального гомеостаза ЦНС половозрелых самцов крыс в зависимости от длительности пренатального стресса
О. Н. Кулешова, Д. Л. Теплый, Д. Д. Теплый, А. С. Семенова 149
- Нейропластические изменения в гиппокампе крыс после ишемического инсульта в неокортексе: гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система и система нейротрофинов
М. В. Онуфриев, Ю. В. Моисеева, М. Н. Волобуева, А. А. Квичанский, Л. В. Третьякова, Н. В. Гуляева 154
- Изменение содержания сфинголипидов в нигростриатной дофаминергической системе мозга у мышей на нейротоксической модели болезни Паркинсона
А. В. Алесенко, В. Е. Блохин, М. А. Шупик, У. А. Гутнер, А. Т. Лебедев, О. А. Малошицкая, С. А. Соколов, М. В. Угрюмов 161
- Гептапептидный аналог тафтсина селанк препятствует увеличению содержания тормозных аминокислот в мозге при моделировании алкогольной абстиненции у крыс
Л. Г. Колик, А. В. Надорова, В. Г. Коньков, В. Б. Наркевич, В. С. Кудрин 168
-

Клиническая нейрохимия

- Вариабельность профилей экспрессии генов нейровоспаления в мононуклеарных клетках периферической крови при боковом амиотрофическом склерозе
М. В. Иванова, А. С. Воронкова, В. С. Сухоруков, М. Н. Захарова 177
- Значимость окислительного повреждения белков и ДНК в крови пациентов с болезнью Паркинсона в оценке тяжести заболевания
Т. Н. Федорова, А. А. Логвиненко, Д. С. Бережной, В. В. Полещук, О. А. Музычук, А. А. Шабалина, С. Н. Иллариошкин 186
-
-

Contents

Vol. 38, no. 2, 2021

Review Articles

- The Putative Role of m6A-RNA Methylation in Memory Consolidation
D. A. Novikov, A. P. Beletskyi, and P. M. Kolosov 99
- The Role of NF- κ B in Neuroinflammation
I. I. Babkina, S. P. Sergeeva, and L. R. Gorbacheva 111
- Neurochemical Mechanisms of Pathogenesis and Pharmacological Correction of Autism Spectrum Disorders: Current Concepts and Prospects
A. A. Alymov, I. G. Kapitsa, and T. A. Voronina 127
-

Theoretical Articles

- A Role of the Hypothalamus in the Formation of Neural Representations of Object–Place Associations in the Hippocampus during Wakefulness and Paradoxical Sleep
I. G. Silkis 139
-

Experimental Articles

- Features of Free Radical Homeostasis of the Central Nervous System of Mature Male Rats Depending on the Duration of Prenatal Stress
O. N. Kuleshova, D. L. Teply, D. D. Teply, and A. S. Semenova 149
- Neuroplastic Changes in Rat Hippocampus after Ischemic Stroke in the Neocortex: The Involvement of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis System and the Neurotrophin System
M. V. Onufriev, Yu. V. Moiseeva, M. N. Volobueva, A. A. Kvichansky, L. V. Tretyakova, and N. V. Gulyaeva 154
- Changes in the Content of Sphingolipids in the Nigrostriate Dopaminergic System of the Mice Brain on the Neurotoxic Model of Parkinson's disease
A. V. Alessenko, V. E. Blokhin, M. A. Shupik, U. A. Gutner, A. T. Lebedev, O. A. Maloshiitskaya, S. A. Sokolov, and M. V. Ugryumov 161
- Heptapeptide Analogue of Tuftsin Prevents the Increase in the Content of Inhibitory Neurotransmitter Amino Acids in the Brain When Modeling Alcohol Withdrawal in Rats
L. G. Kolik, A. V. Nadorova, V. G. Kon'kov, V. B. Narkevich, and V. S. Kudrin 168
-

Clinical Neurochemistry

- Variability of Neuroinflammatory Gene Expression Profiles in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis
M. V. Ivanova, A. S. Voronkova, V. S. Sukhorukov, and M. N. Zakharova 177
- Significance of Oxidative Damage to Proteins and DNA in Blood Patients with Parkinson's Disease in Assessing the Severity of the Disease
T. N. Fedorova, A. A. Logvinenko, V. V. Poleshchuk, O. A. Muzychuk, A. A. Shabalina, and S. N. Illarioshkin 186
-
-

УДК 577

ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ m6A-МЕТИЛИРОВАНИЯ РНК В КОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ

© 2021 г. Д. А. Новиков¹, А. П. Белецкий¹, П. М. Колосов¹, *¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 17.12.2020 г.

После доработки 23.12.2020 г.

Принята к публикации 26.12.2020 г.

Промежуточная память представляет собой один из этапов в процессе консолидации памяти и полностью исчезает к началу проявления долговременной памяти. Данный этап зависит от трансляции, но не транскрипции, а также сопровождается активацией синтеза белка. Модификации РНК, называемые эпитранскриптомом, особенно N6-метиладенозин (m6A)-метилирование, могут участвовать в регуляции этого процесса. В многочисленных исследованиях доказан общий стимулирующий трансляцию эффект m6A, и показано увеличение количества данной модификации в мРНК нейронов животных после обучения. Экспериментальное воздействие на отдельные ферменты, связанные с m6A, приводило как к ухудшению, так и усилению консолидации памяти. В данном обзоре на основе данных об изменении РНК m6A метилома и поведении деметилазы FTO в нейронах обученных животных выдвигается гипотетическая модель их участия в консолидации памяти. Кроме того, рассмотрены и другие эпигенетические и эпитранскриптомные механизмы, потенциально регулирующие этот процесс.

Ключевые слова: m6A-метилирование РНК, эпитранскриптом, метилом, нейрон, память, обучение

DOI: 10.31857/S1027813321020114

КОНЦЕПЦИЯ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ПАМЯТИ

Одной из самых старых и наиболее распространенных идей в отношении памяти является то, что память можно разделить на кратковременную (short-term memory, STM) и долговременную (long-term memory, LTM) [1]. Из исследований ряда систем памяти стало ясно, что разделение только на 2 крайних состояния (фазы) слишком упрощено [2–6]. Концепция промежуточной памяти (intermediate-term memory, ITM) зародилась в 90-е [2], а в 2001 Sutton и коллеги предложили следующие критерии промежуточной памяти (промежуточной синаптической пластичности) [7]:

1) Ее индукция требует трансляции, но не транскрипции (в отличие от LTM) [8–10].

2) Проявление требует постоянной активации РКА и РКС [11] (и, возможно, САМК, классы киназ отличаются от LTM [2]).

3) Полностью исчезает к началу проявления долговременной памяти [12].

В 2010 Antonov и соавторы установили еще один критерий:

4) Изменения происходят и в пре-, и в постсинапсе (в отличие от STM в пресинапсе [4, 13] и ин-

дукции LTP (long-term potentiation) в постсинапсе [14, 15].

Kandel и соавторы считают, что промежуточная память существует от нескольких минут до нескольких часов [4], переход памяти в промежуточную фазу начинается после ее выхода из фокуса внимания памяти (рабочего состояния) [16]. Во время развития LTP стадии промежуточной синаптической пластичности соответствует стадия LTP2, ранняя из L-LTP, наступающая после E-LTP (LTP1), не зависящей от синтеза белка, и длящаяся до LTP3, зависящей от транскрипции [17].

Стоит отметить, что указанные критерии скорее всего не являются универсальными для всех животных и разработаны для позвоночных. К примеру, промежуточная память экстремально просто устроенной и короткоживущей нематоды *C. elegans*, по-видимому, не зависит от синтеза белка [18]. А недавняя работа на *A. californica* продемонстрировала зависимость промежуточной памяти этого моллюска от транскрипции [5].

ГИПОТЕЗЫ О МЕХАНИЗМАХ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ПАМЯТИ

Скорость синтеза белков, вовлеченных в синаптическую пластичность, возрастает уже через 5 мин после активации нейронов [19–22]. В моде-

* Адресат для корреспонденции: 117865 Россия, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а, e-mail: kolosov@ihna.ru.

ли mGluR-LTD (long-term depression) в нейронах гиппокампа уровни трансляции немедленного раннего гена Arc значительно повышены через 5 мин после активации mGluR [23]. Аналогично, уже через 5 мин после стимуляции серотонином синтез белка необходим для промежуточной пластичности у *Aplysia* [15, 24]. Поскольку промежуточная память позвоночных не требует транскрипции, для ее формирования необходимы изменения в режиме синтеза белка с уже транскрибированных мРНК [8].

Каким образом может происходить эта активация синтеза белка? Ряд работ показывает, что активированные PKA и PKC независимо способны активировать синтез определенного пула белков в нейронах [25, 26].

На примере PKC это может происходить через последовательную активацию ERK1/2-mTOR-RPS6 [27]. mTOR действительно важен для (ре)консолидации памяти [28, 29]. И хотя управление трансляцией белков через mTOR является самым известным механизмом, существуют и другие механизмы активации трансляции, в том числе в нейронах и при запоминании [6, 23], например, обсуждаемый ниже эпитранскриптомный [30].

Необходимо отметить, что трансляция отдельных транскриптов во время консолидации памяти подавляется, такие транскрипты классифицированы на 3 группы [31]. Самый известный негативный регулятор трансляции в синаптической пластичности – белок FMRP (см. ниже).

Интересно, что для консолидации памяти требуется рост скорости не только трансляции, но и деградации белков [32–34]. Причем подавление трансляции или деградации приводит к нарушению консолидации, но подавление и трансляции, и деградации одновременно не влияет на нее [34, 35], равно как и одновременное подавление mTOR и деградации [29]. Для объяснения этих сложно взаимосвязанных процессов Smolen и соавторами была предложена многостадийная модель консолидации памяти [36].

m6A МОДУЛИРУЕТ ТЕМП ПРОИЗВОДСТВА БЕЛКА

N6-метиладенозин (далее – m6A) является самой распространенной внутренней модификацией мРНК и длинных некодирующих РНК, а также встречается практически во всех типах РНК (а всего насчитывается более 100 модификаций РНК (modomics.genesilico.pl)) [37]. Первоначально сообщалось, что данная модификация встречается в среднем в количестве 3 на транскрипт [38]. При этом она чаще встречается в 3'UTR и около стоп-кодона [39–42], ее несут примерно 25% мРНК [39, 40], а некоторые мРНК, особенно генов домашнего хозяйства, по-видимому, не содержат ее

[43]. Создана база сайтов m6A-модификаций в различных клетках разных организмов [44].

Присутствие m6A в ткани мозга выше, чем где-либо еще [23, 40]. В нашей работе и работах других групп было показано наличие в нейронах (нейроглиальных культурах) m6A-меток на транскриптах тысяч генов, в том числе практически всех основных генов, участвующих в нейропластичности, включая немедленные ранние, Prkcz, другие гены PKC, гены PKA, гены CaMK, гены семейства Creb, включая Creb-3, Bdnf, а также Dscam, PAHAN1B1 и Ube3a [39–41, 45, 46]. Merkurjev и соавторы продемонстрировали значительное m6A-метилирование транскриптов в синапсах [46]. Уровень m6A с возрастом растет [39]. На протяжении эволюции человека m6A-метилирование различных участков РНК, по-видимому, росло [47]. В совокупности эти данные указывают на наличие в мозге механизмов регуляции экспрессии генов (с участием m6A и других модификаций РНК [48], причем m6A влияет и на другие модификации [49]) важных для высшей нервной деятельности.

Самой известной функцией этой модификации является регуляция времени полужизни мРНК [50, 51].

Wang и соавторы показали механизм регуляции скорости синтеза белка и деградации мРНК посредством m6A [52]. Данная модификация вносится на этапе транскрипции специализированной органеллой – метилосомой, каталитический центр которой принадлежит метилтрансферазе METTL3 [53]. METTL3 вместе с METTL14, которая осуществляет узнавание субстрата, образует метилтрансферазный комплекс MAC [54]. Однако, значительное количество METTL3 и небольшое количество METTL14 было найдено в цитоплазме [55]. Белки, считывающие модификации РНК, называются ридерами. Ридерами, входящими в описываемый механизм, в первую очередь являются YTHDF1 (способствует инициации трансляции) и белки, способствующие деградации мРНК (см. ниже). YTHDF3 тоже распознает m6A и способствует трансляции, и, как считается, также посредством YTHDF1 [56, 57]. Белки YTHDF способствуют инициации трансляции по кэп-зависимому механизму. Трансляция почти всех мРНК требует кэп [6].

m6A может способствовать инициации трансляции и по кэп-независимому пути: если m6A-метка находится в районе 5'UTR [58], она напрямую способна инициировать трансляцию, присоединяя eIF3 без участия eIF4E и eIF4F [59–61]. Это представляет собой самую известную функцию единичных m6A-модификаций [50]. Такой трансляции также способствует метка m6A, находящаяся в составе более сложной модификации m6Am (m6,2A, N6,2'-O-диметиладенозин), где она является частью кэпа [62]. По некоторым данным,

данная модификация встречается в 33 раза реже m6A [63].

m6A-опосредованную деградацию РНК способны осуществлять YTHDF2, YTHDC2 [64] и FMRP [65]. Все белки семейства YTHDF найдены в дендритах [46]. Белок ELAV, по-видимому, помогает распознавать субстрат YTH-ридерам [40, 53]. Деградация РНК также может быть опосредована взаимодействием с мРНК и белком HuR, который защищает РНК (m6A могут препятствовать связыванию) [66].

Недавно было установлено еще одно семейство белков-ридеров m6A – IGF2BP1/2/3, которые тоже повышают уровень трансляции и стабильность мРНК [67].

Интересно, что METTL3 и METTL16 (еще одна ядерная метилтрансфераза, не входящая в состав метилосомы [68]) могут также выступать в роли ридеров, способствуя трансляции таргетных мРНК [53, 69, 70].

В результате количество белкового продукта, синтезированного с каждой мРНК, может оставаться неизменным, но повысится скорость синтеза белковых молекул [52].

Кроме метилосомы, метилтрансферазы METTL16 и белков-ридеров в m6A-систему модификации мРНК входят также деметилазы [71].

Интересной особенностью YTHDF2 является его способность транслоцироваться в ядро, где он конкурирует за связывание с m6A с деметилазой FTO [71], однако, показано это было в эмбриональных фибробластах и клетках HeLa в условиях теплового шока (у других ферментов m6A-системы подобные способности к транслокации не обнаружены) [60]. На стабильность мРНК также оказывает влияние метка m6Am, тоже подверженная деметилированию FTO [72].

Darnell и соавторы считают, что m6A может привлекать белки и к соседним РНК [50]. Об этом, в частности, говорят измерения времени жизни РНК, которые не несут модификаций [51].

m6A-МЕТИЛОМ МОДУЛИРУЕТ ПРОЦЕСС ОБУЧЕНИЯ

На сегодняшний день установлено, что m6A-метилом модулирует силу (консолидации) памяти [45, 73].

Впервые изменения m6A-метилома после обучения были показаны в коллаборативной работе J. Widagdo из лаборатории V. Anggono [41]. В этом исследовании был продемонстрирован рост содержания m6A в РНК префронтальной коры мышей через 2 ч после обучения, а также в культуре кортикальных нейронов после деполяризации.

Белки, считывающие m6A-модификации, тоже необходимы для надлежащей консолидации

памяти. Без YTHDF1 наблюдается нарушение консолидации памяти (реэкспрессия YTHDF1 снимает этот эффект) [74], нокдаун YTHDF1 или YTHDF3 нарушает синаптическую трансмиссию, изменяет морфологию шипиков и белковое содержание мембран нейронов [46].

Интересно, что у нематоды *C. elegans*, у которой промежуточная память, видимо, не зависит от синтеза белка [18], нет и метилосом [54] и деметилазы РНК [53, 75, 76]. Однако, у нее есть метилтрансфераза METTL16 [69].

ПРЕДПОЛАГАЕМАЯ РОЛЬ ДЕМЕТИЛАЗЫ FTO В ФОРМИРОВАНИИ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ ПАМЯТИ

На сегодняшний день у животных известно только две деметилазы m6A в мРНК – FTO (ранее известна как ALKBH9 [77]) и ALKBH5 [43, 78]. В тРНК m6A может также деметилироваться ALKBH3 [79]. В данном разделе будет представлена предпологаемая модель, согласно которой во взрослом мозге FTO, осуществляя деметилирование в период относительного покоя нейрона, является тормозом формирования памяти, препятствуя его включению в какую-либо энграмму. После же активации FTO, видимо, также играет роль в сопряжении возбуждения и транскрипции, а также, возможно, управляет взрослым нейрогенезом.

В отличие от FTO, ALKBH5, по-видимому, не играет роли в процессах памяти. Этот вопрос был исследован в работе Walters и соавторов [80]. Локализация этих ферментов в клетках и тканях подтверждает сказанное. Присутствие FTO в мозге более выражено, чем, например, в мышцах [81], а наибольший уровень ALKBH5 наблюдается в тестикулах [82]. ALKBH5 преимущественно локализуется в ядре (где, судя по всему, регулирует ядерный транспорт) [55, 82], а FTO – как в ядре (ядерные спеклы, содержащие факторы, регулирующие сплайсинг, в них же находятся компоненты метилосомы), так и в дендритах и около дендритных шипиков, что было продемонстрировано несколькими способами [80]. Кроме того, мыши, нокаутные по Alkbh5, не несут никаких видимых аномалий, кроме сперматогенеза [82]. Мыши, нокаутные по FTO, имеют дефицит обучения и памяти [83].

Кроме локализации, FTO имеет и соответствующую специфичность – среди широкого спектра ее мишеней особенно выделяются транскрипты, вовлеченные в синаптическую активность [41, 84]. В низкокодифференцированных клетках деметилирование маловыраженно [50, 51].

В течение получаса после обучения уровень FTO в гиппокампальных нейронах падал, причем преимущественно около синапсов, но не в ядрах [80]. Уровень мРНК FTO был снижен через пол-

часа после обучения и восстанавливался через час. В нейронах префронтальной коры падение мРНК FTO было зафиксировано и через 2 ч после обучения, что коррелировало с возросшим уровнем m6A [41].

Как отмечалось выше, промежуточная память зависит от синтеза нового белка и сопровождается активацией трансляции. Падение уровня FTO приводило к увеличению количества метилированных мРНК (но не метилирования всех РНК) [71, 80, 84], что должно способствовать их трансляции [52, 56, 57, 59, 60]. Особенно важно, что в работах двух независимых групп, тремя методами было подтверждено, что подавление (нокдаун) Fto усиливает консолидацию памяти – в коре [41] и гиппокампальной формации [80], а условно нокаутные по Fto мыши тоже запоминали в этой же парадигме быстрее и замирали дольше, хотя не было замечено дефицита в другом виде долговременной и в кратковременной памяти [85], кроме того у них улучшалась память в модели болезни Альцгеймера [86]. Однако, увеличение продолжительности замирания может означать как более твердую память, так и нарушение забывания.

Одним из свойств промежуточной памяти является ее исчезновение до формирования долговременной памяти. Через час после обучения уровень метилированных РНК в гиппокампальной формации возвращался к норме [80]. Еще раз отметим, трансляция метилированных РНК потенциально может не приводить к увеличению количества молекул белка, синтезированных с одной молекулы РНК, а лишь к возрастанию скорости их синтеза.

Постоянная работа FTO была показана и в кардиомиоцитах, где она обеспечивает стационарный уровень экспрессии сократительных белков [87].

Остается неясным, что приводит к падению уровня FTO около синапсов и мРНК FTO после обучения. Время полужизни белка FTO в гомогенате мозжечка мыши составляет 1.54 дня [88]. Можно предположить, что около синапсов гиппокампальных нейронов это время на порядки меньше, и тогда падение уровня белка FTO будет связано с падением уровня его мРНК. Но вопрос о причине падения уровня мРНК FTO в любом случае остается открытым.

Было надежно показано, что FTO взаимодействует с различными изоформами CaMKII, в том числе γ CaMKII [89]. При этом FTO не подвергается фосфорилированию с их стороны и не влияет на их киназную активность, но его оверэкспрессия откладывает дефосфорилирование (деактивацию) основного транскрипционного фактора LTP – CREB [89]. CREB фосфорилируется в ядре CaMKIV посредством CaMKK и Ca^{2+} /CaM, который транслоцируется туда из околочембранного про-

странства вместе с γ CaMKII во время индукции долговременной пластичности (например, LTP) [90]. Было показано, что FTO перемещается между ядром и цитоплазмой в обоих направлениях [91]. Мы предполагаем, что FTO может перемещаться в ядро в комплексе с γ CaMKII. Активация CREB, продленная при оверэкспрессии FTO, приводит к повышению экспрессии BDNF [89], который играет важную роль в обучении [92], в том числе, возможно, в промежуточной памяти (ортолог *Aplysia*) [5]. Механизм продления активации CREB посредством FTO связан с его деметилазной активностью [89], что указывает на наличие неустановленного участника. FTO также способствует созреванию BDNF через подъем уровня мРНК MMP9 [93].

Мы также не исключаем, что FTO может подвергаться UPS-деградации и/или убиквитин-опосредованной ядерной транслокации в активированных синапсах/нейронах, учитывая данные об убиквитинировании FTO и опосредованной им ядерной транслокации [94] и о роли различных убиквитинлигаз в обучении, консолидации памяти [95, 96] и формировании шипиков [97]. Является ли этот механизм синапс-специфичным, также представляет большой интерес.

Интересно, что FTO регулирует взрослый нейрогенез, причем тоже через подъем уровня BDNF [83].

Также FTO негативно регулирует созревание глии [98].

Стоит отметить, что FTO-опосредованное деметилирование многостадийно (в отличие от ALKBH5 [82]): m6A:hm6A:(f6A:)A, причем интермедиаты hm6A (N6-гидроксиметилладонозин) и f6A (N6-формиладонозин) могут оставаться стабильными в течение нескольких часов [99].

У человека на важность гена Fto в процессах памяти также указывают несколько общегеномных ассоциативных исследований. К ним относятся изменения когнитивных способностей у пожилых людей [100, 101], которые могут быть связаны с повышенной распространенностью болезни Альцгеймера (FTO взаимодействует с APOE) [102].

НЕОДНОЗНАЧНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ m6A И FTO НА СИНТЕЗ БЕЛКА. РОЛЬ FMRP

Как уже отмечалось выше, во время консолидации памяти трансляция некоторых мРНК подавляется. Несмотря на общий стимулирующий трансляцию эффект, оказываемый m6A [103], трансляция отдельных транскриптов подавляется белком FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein), который также способен связываться с m6A [104–106]. Например, в отмеченной выше модели mGluR-LTD трансляция Arc повышается из-за снятия ингибирующего эффекта, оказываемого

FMRP [23]. Более того, в этой модели наблюдается глобальное снижение уровня трансляции.

Ингибирующий эффект FMRP пропадал в отсутствие метилирования РНК, вызванного siRNA нокдауном основной метилтрансферазы Mettl3 [105].

FMRP значительно экспрессируется в нейронах и потеря его функции является лидирующей наследственной формой интеллектуальной недееспособности и расстройства аутистического спектра [107]. Механизм избирательной активности FMRP не установлен [103], но выдвинута гипотеза, согласно которой он конкурирует с YTHDF1 за связывание с m6A [105]. Недавно было показано, что FMRP взаимодействует с YTHDF2 [106]. Majumder и соавторы считают, что он может проявлять свои функции посредством белка-адаптера TDP-43 [108].

Дифференциальные эффекты m6A могут зависеть не только от FMRP, но и от различных взаимодействующих элементов, которые присутствуют в молекуле РНК, и которые могут взаимодействовать с m6A, включая микроРНК [109, 110]. Нахождение m6A в 5' UTR области может быть необходимым для формирования uORF, то есть стимулировать трансляцию вторичных пептидов вместо первичного белка [111]. Так регулируется трансляция, в частности, ATF4, пока смена условий (появление аминокислотного голодания) не приведет к снятию метки m6A [112]. uORF несут РНК около половины генов человека [113], в частности, мРНК РКМ ζ , где ее транскрипционный блок пропадает при активации долговременной синаптической пластичности [20]. Кстати, m6A была обнаружена в 5' UTR области продукта гена *Rgkscz* в мозге мыши [39]. Наконец, было обнаружено, что замедление транскрипции ведет к увеличению числа включенных в РНК m6A, а это, в свою очередь, приводит к замедлению трансляции [114]. Однако, в данном случае m6A вероятно распределяется между нетранслируемыми областями РНК, что встречается реже [39–42].

Оверэкспрессия деметилазы FTO замедлила темп деградации большинства, но не всех транскриптов [41].

Парадоксально, FTO может не только подавлять трансляцию транскриптов-мишеней, но и способствовать уменьшению их стабильности, деметилируя m6Am (m6Am:hm6Am:Am), причем это деметилирование m6A является самым изученным [50, 72]. Эту модификацию, которая затрудняет их декэпирование ферментом DCP2 [72], несут до 30% мРНК [115]. ALKBH5 не проявляет такую активность [72]. Эти данные привлекли особенный интерес после работы Engel и соавторов, где было показано, что условный нокаут Fto не привел к повышению глобального уровня m6A в гиппокампальных нейронах и нейронах неокортекса, но

привел к повышению уровня m6Am (хотя он же привел к повышению метилирования между UTR) [85]. Эта же группа продемонстрировала нарушение LTP у условно нокаутных по Fto, но не Mettl3, мышей и не выявила нарушений PPF и нейротрансмиссии [85]. Самая известная позиция m6Am – первый транскрибированный нуклеотид (если он является аденозином, что происходит примерно в 40% случаев [50]), там ее (m6A) котранскрипционно вносит фермент PCIF1 (CAPAM) [62, 116]. Если метилирование у 3' конца происходит с участием белка WTAP (компонент метилосомы), то установка m6A в кэповом m6Am – без его участия [58]. Существуют и энзимы с диметилтрансферазной активностью, например, DIMT1 (показано, что он диметилирует аденозины в рРНК) [54]. Дальнейшие исследования, включая рентгеноструктурный анализ, показали, что FTO все-таки проявляет наибольшее сродство к m6A [117, 118]. Ее предпочтение m6Am в некоторых условиях может объясняться еще не изученными механизмами субстратной специфичности этой деметилазы.

Выше уже отмечалась широко известная роль mTOR в активации трансляции. Интересно, что FTO также активирует mTOR, уменьшая уровень мРНК TSC1, в мышечной модели болезни Альцгеймера [86]. Возможно, этот эффект проявляется не в синапсах, так как и в этом исследовании условный нокаут Fto в нейронах привел к улучшению памяти. Считается, что в данном механизме FTO выступает в роли сенсора аминокислот [119], и чем меньше аминокислот, тем меньше экспрессия FTO [120].

Также было показано, что FTO деметилирует и модификацию m1A (1-метиладенозин), а ее субстратная специфичность в ядре отличается от специфичности в цитоплазме [118].

Удивительным открытием стало обнаружение необходимости для угасания условного страха роста метилирования по 6 позиции и аденина в ДНК, в частности, в промоторе гена *Bdnf* [121]. Деметилаза FTO может исправлять и эту модификацию (показано *in vitro*) [122].

ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ В ПРОЦЕССАХ ПАМЯТИ

Оверэкспрессия основной метилтрансферазы METTL3 способствует усилению консолидации памяти [45, 73]. По CaMKII α -Cre опосредованному нокауту Mettl3 данные, однако, противоречивы. Так, Zhang и соавторы продемонстрировали дефицит [45], а Engel и соавторы – неизменную консолидацию памяти в парадигме обуславливания страха у нокаутных мышей, несмотря на падение уровня m6A (но замедленное забывание)

Таблица 1. Влияние воздействий на Mettl3 и Fto на консолидацию памяти

Воздействие	Fto	Mettl3
Оверэкспрессия	? (замедление темпа деградации большинства транскриптов [41], повышение экспрессии BDNF [89])	+ [45]
Нокаут	дефицит обучения и памяти, нарушение взрослого нейрогенеза, уменьшение объема мозга, понижение экспрессии BDNF [83]	гибель эмбриона [124]
Нокдаун	+ [41, 80]	? (повышение стабильности транскриптов [105])
Условный нокаут	+ (нейроны [86], нейроны CA1,3 [85])	– (возбуждающие нейроны [45])/0 (но замедленное забывание) (нейроны CA1,3 [49])

[85]. Нокдаун Mettl3 приводит к повышению стабильности транскриптов [105].

Widagdo и коллеги нашли, что в префронтальной коре экспрессия мРНК METTL3 повышена через 2 ч после обучения, что коррелировало с возросшим уровнем m6A [41]. Более того, в работе Zhang и соавторов было показано, что способность к обучению у диких мышей коррелирует с уровнем METTL3 в гиппокампальной формации [45]. Интересно, что дополнительное обучение корректировало этот эффект. Авторы делают вывод, что метилирование помогает обучению, но не является обязательным его условием, данный вывод подкреплен измерением экспрессии мРНК и белков немедленных ранних генов, которая у условно нокаутных по Mettl3 мышей была значительно снижена, но не отсутствовала.

Engel и соавторы обнаружили интересные зависимости экспрессии ферментов m6A-системы от региона мозга (префронтальной коры или гиппокампальной формации) после стресса [85]. Koganda и соавторы продемонстрировали нарушение обучения, связанного с полосатым телом, у мышей с условным нокдауном Mettl14 [123].

Поскольку METTL3 и FTO находятся в антагонизме относительно m6A, влияние на их гены оказывает в целом противоположные эффекты на консолидацию памяти (табл. 1).

METTL3 также может выступать в роли ридера, способствуя трансляции таргетных мРНК, посредством взаимодействия с eIF3h, что было показано в раковых клетках [53, 70].

Помимо метилосомы, в ядре также осуществляет динамическое метилирование метилтрансфераза METTL16 [68]. В ситуации дефицита SAM (S-аденозилметионин, донор метильных групп) она даже выступает в роли своеобразного ридера, в конечном итоге повышая его концентрацию [69]. Учитывая локализацию метилтрансфераз, маловероятно, что они специфично влияют на

синаптическую пластичность, в отличие от деметилазы FTO.

ВОЗМОЖНОСТИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ СИНТЕЗА БЕЛКА В КОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ ПОСРЕДСТВОМ m6A

Следует иметь в виду, что клетки могут иметь глобальные и локальные механизмы, регулирующие трансляцию в различных ситуациях [23, 52]. Эпитранскриптом может способствовать не только локальной регуляции трансляции, но и специфичной регуляции трансляции [23, 41, 80, 104, 105, 109, 110, 114], альтернативного сплайсинга [125] (но [51]), альтернативного полиаденилирования [126] и созревания [68] отдельных транскриптов. Кроме того, показано участие m6A-модификаций в транспорте РНК [37, 82]. Практически все эти процессы в той или иной степени задействованы в консолидации памяти (для примера [127]).

Особо стоит отметить влияние модифицированных оснований (m6A) на структуру нуклеополимеров (и наоборот) [112, 128–131], которая в свою очередь испытывает влияние концентрации ионов (Ca^{2+}) [132, 133] и влияет на НК-белковые взаимодействия [129–131], определяющие, в частности, трансляцию [20, 112, 133, 134] и локализацию мРНК [135].

Группа Kandel выдвинула гипотезу, что экзосомальные РНК могут также быть модифицированы, и что модификации экзосомальных РНК могут представлять собой еще один механизм регуляции нейропластичности [136]. РНК также, по-видимому, транспортируются через синапс, по крайней мере через синаптические шипики при активации NMDA рецепторов [137].

На рис. 1 представлено известное нам многообразие участия m6A-модификации мРНК в различных формах метаболизма.

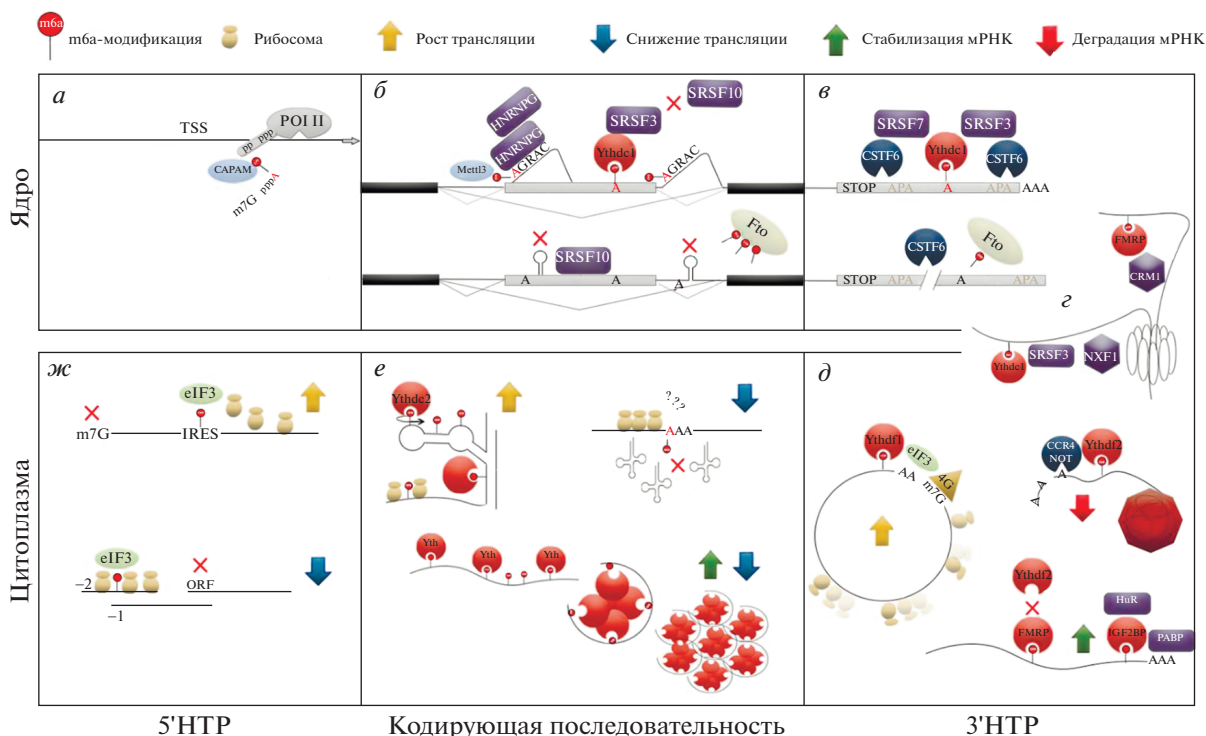


Рис. 1. Участие m6A-модификации в различных формах метаболизма мРНК. *а* – m6A-модификация в 5' кэпе вносится метилтрансферазой CAPAM, увеличивая стабильность мРНК [62]. *б* – m6A-зависимый сплайсинг при участии двух известных механизмов: рекрутирования конкурентных сплайсинг факторов SRSF3/SRSF10 к m6A-ридеру YTHDC1 [125], либо дестабилизации вторичных структур мРНК, открывающей мотивы для связывания белков семейства HNRNP [131]. Обратный процесс может, предположительно, регулироваться деметилазой FTO. *в* – Выбор отдаленных участков альтернативного полиаденилирования (APA) m6A-ридером YTHDC1 в комплексе с SRSF3, проксимальных APA-участков комплексом YTHDC1 и SRSF7 [141, 142]. *г* – Регуляция экспорта РНК двумя механизмами – m6A-ридером YTHDC1, в комплексе с SRSF3 и NXF1 [37], либо за счет взаимодействия FMRP и CRM1 [143, 144]. *д* – Усиление трансляции, деградации (или транспорта в стресс-гранулы) и стабильности мРНК при участии m6A-ридеров YTHDF1 [52], YTHDF2 [64] и FMRP/IGF2BP [67] соответственно. *е* – Дестабилизация вторичных структур мРНК с помощью m6A-ридера YTHDC2 [145], m6A-зависимая блокада распознавания специфичных tРНК при трансляции [146], образование РНК-гранул за счет множественного связывания и агрегации m6A-ридеров [147, 148]. *ж* – Кэп-независимая трансляция мРНК путем привлечения инициаторного фактора 3, действующего как m6A-ридер [59], а также регуляция распознавания им альтернативных upstream-рамок считывания мРНК [112].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

m6A и другие модификации рассматриваются сегодня как основной регулятор времени жизни РНК [50]. Кроме того, судя по всему, различные модификации РНК (эпитранскриптом) способны регулировать инициацию и скорость различных этапов трансляции в манере, похожей на ту, как модификации ДНК и гистонов (эпигеном) регулируют инициацию и скорость транскрипции различных участков генома [138]. Уже установлено важное значение m6A в самых разных биологических процессах – развитие [139], ход циркадных часов [140], онкогенез, вирусная инфекция [43].

Приведенные экспериментальные данные показывают, что это посттранскрипционное модифицирование РНК является важным регулятором и поведения, а конкретно – промежуточной синаптической пластичности и консолидации памяти, наряду с модифицированием ДНК, гистонов и

некодирующими РНК. Будущие исследования должны уточнить роль m6A и других модификаций в различных физиологических процессах, в частности, в формировании памяти, а также функцию молекул, взаимодействующих с ними, таких как FTO.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена с использованием средств государственного бюджета по госзаданию на 2019–2021 годы (тема № АААА-А17-117092040002-6).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Squire L.R., Knowlton B., Musen G.* // Annual Review of Psychology. 1993. V. 44. № 1. P. 453–495.
2. *Rosenzweig M.R., Bennett E.L., Colombo P.J., Lee D.W., Serrano P.A.* // Behav. Brain Res. 1993. V. 57. № 2. P. 193–198.
3. *Bliim N., Leshchyn'ska I., Sytnyk V., Janitz M.* // Neurogenetics. 2016. V. 17. № 4. P. 201–210.
4. *Kandel E.R., Dudai Y., Mayford M.R.* // Cell. 2014. V. 157. № 1. P. 163–186.
5. *Yang Q., Antonov I., Castillejos D., Nagaraj A., Bostwick C., Kohn A., Moroz L., Hawkins R.D.* // Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y. 2018. V. 25. № 12. P. 620–628.
6. *Jin I., Udo H., Nicholls R., Zhu H., Kandel E.R., Hawkins R.D.* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. V. 115. № 47. P. 11168–11177.
7. *Sutton M.A., Masters S.E., Bagnall M.W., Carew T.J.* // Neuron. 2001. V. 31. № 1. P. 143–154.
8. *Crow T., Xue-Bian J.J., Siddiqi V.* // J. Neurophysiol. 1999. V. 82. № 1. P. 495–500.
9. *Parvez K., Stewart O., Sangha S., Lukowiak K.* // J. Exp. Biol. 2005. V. 208. № 8. P. 1525–1536.
10. *Kim J.H., Udo H., Li H.L., Youn T.Y., Chen M., Kandel E.R., Bailey C.H.* // Neuron. 2003. V. 40. № 1. P. 151–165.
11. *Sutton M.A.* // J. Neuroscience. 2004. V. 24. № 14. P. 3600–3609.
12. *Lukowiak K., Adatia N., Krygier D., Syed N.* // Learn Mem. 2000. V. 7. № 3. P. 140–150.
13. *Roberts A.C., Glanzman D.L.* // Trends in Neurosciences. 2003. V. 26. № 12. P. 662–670.
14. *Malinow R., Malenka R.C.* // Annual Review of Neuroscience. 2002. V. 25. P. 103–126.
15. *Antonov I., Kandel E.R., Hawkins R.D.* // J. Neuroscience. 2010. V. 30. № 16. P. 5781–5791.
16. *Kamiński J.* // The J. Neuroscience. 2017. V. 37. № 20. P. 5045–5047.
17. *Lynch M.A.* // Physiological Reviews. 2004. V. 84. P. 87–136.
18. *Lin C.H., Rankin C.H.* // Encyclopedia of Animal Behavior. 2010. P. 520–526.
19. *Balaban P.M., Roshchin M., Timoshenko A.K., Zuzina A.B., Lemak M., Ierusalimsky V.N., Aseyev N.A., Malyshev A.Y.* // Frontiers in Cellular Neuroscience. 2015. V. 9. P. 222.
20. *Bal N.V., Susorov D., Chesnokova E., Kasianov A., Mikhailova T., Alkalaeva E., Balaban P.M., Kolosov P.* // Frontiers in Molecular Neuroscience. 2016. V. 9. P. 103.
21. *Chesnokova E., Bal N., Kolosov P.* // International J. Molecular Sciences. 2017. V. 18. № 10. P. 2213.
22. *Ostroff L.E., Watson D.J., Cao G., Parker P.H., Smith H., Harris K.M.* // Hippocampus. 2018. V. 28. № 6. P. 416–430.
23. *Park S., Park J.M., Kim S., Kim J.A., Shepherd J.D., Smith-Hicks C.L., Chowdhury S., Kaufmann W., Kuhl D., Ryzanov A.G., Haganir R.L., Linden D.J., Worley P.F.* // Neuron. 2008. V. 59. № 1. P. 70–83.
24. *Villareal G., Li Q., Cai D., Glanzman D.L.* // Curr. Biol. 2007. V. 17. № 23. P. 2073–2080.
25. *Farah C.A., Weatherill D., Dunn T.W., Sossin W.S.* // J. Neuroscience. 2009. V. 29. № 33. P. 10281–10286.
26. *Alkon D.L., Epstein H., Kuzirian A., Bennett M.C., Nelson T.J.* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2005. V. 102. № 45. P. 16432–16437.
27. *Wang Y., Zhu L., Kuokkanen S., Pollard J.W.* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2015. V. 112. № 11. P. 1382–1391.
28. *Callum P.E. Mac, Hebert M., Adamec R.E., Blundell J.* // Neurobiology of Learning and Memory. 2014. V. 112. № 11. P. 176–185.
29. *Lyons L.C., Gardner J.S., Gandour C.E., Krishnan H.C.* // Learning and Memory. 2017. V. 24. № 1. P. 59–64.
30. *Anisimova A.S., Alexandrov A.I., Makarova N.E., Gladyshev V.N., Dmitriev S.E.* // Aging. 2018. V. 10. № 12. P. 4269–4288.
31. *Cho J., Yu N.-K., Choi J.-H., Sim S.-E., Kang S.J., Kwak C., Lee S.-W., Kim J., Choi D. II, Kim V.N., Kaang B.-K.* // Science. 2015. V. 350. № 6256. P. 82–87.
32. *Rao V.R., Pintchovski S.A., Chin J., Peebles C.L., Mitra S., Finkbeiner S.* // Nature Neuroscience. 2006. V. 9. № 7. P. 887–895.
33. *Messaoudi E., Kanhema T., Soule J., Tiron A., Dagey G., Silva B. da, Bramham C.R.* // J. Neuroscience. 2007. V. 27. № 39. P. 10445–10455.
34. *Bal N., Roshchin M., Salozhin S., Balaban P.* // Cellular and Molecular Neurobiology. 2017. V. 37. № 5. P. 763–769.
35. *Fonseca R., Vabulas R.M., Hartl F.U., Bonhoeffer T., Nägerl U.V.* // Neuron. 2006. V. 52. № 2. P. 239–245.
36. *Smolen P., Baxter D.A., Byrne J.H.* // J. Theor. Biol. 2018. V. 457. P. 79–87.
37. *Roundtree I.A., Luo G.Z., Zhang Z., Wang X., Zhou T., Cui Y., Sha J., Huang X., Guerrero L., Xie P., He E., Shen B., He C.* // eLife. 2017. V. 6. P. e31311.
38. *Desrosiers R., Friderici K., Rottman F.* // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1974. V. 71. № 10. P. 3971–3975.
39. *Meyer K.D., Saletore Y., Zumbo P., Elemento O., Mason C.E., Jaffrey S.R.* // Cell. 2012. V. 149. № 7. P. 1635–1646.
40. *Dominissini D., Moshitch-Moshkovitz S., Schwartz S., Salmon-Divon M., Ungar L., Osenberg S., Cesarkas K., Jacob-Hirsch J., Amariglio N., Kupiec M., Sorek R., Rechavi G.* // Nature. 2012. V. 485. № 7397. P. 201–206.
41. *Widagdo J., Zhao Q.-Y., Kempen M.-J., Tan M.C., Ratnu V.S., Wei W., Leighton L., Spadaro P.A., Edson J., Anggono V., Bredy T.W.* // J. Neuroscience. 2016. V. 36. № 25. P. 6771–6777.
42. *Ke S., Alemu E.A., Mertens C., Gantman E.C., Fak J.J., Mele A., Haripal B., Zucker-Scharff I., Moore M.J., Park C.Y., Vågbo C.B., Kusnierczyk A., Klungland A., Darnell J.E. Jr., Darnell R.B.* // Genes Dev. 2015. V. 29. № 19. P. 2037–2053.
43. *Manners O., Baquero-Perez B., Whitehouse A.* // Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech. 2019. V. 1862. № 3. P. 370–381.

44. Han Y., Feng J., Xia L., Dong X., Zhang X., Zhang S., Miao Y., Xu Q., Xiao S., Zuo Z., Xia L., He C. // *Cells*. 2019. V. 8. № 2. P. 168.
45. Zhang Z., Wang M., Xie D., Huang Z., Zhang L., Yang Y., Ma D., Li W., Zhou Q., Yang Y.G., Wang X.J. // *Cell Res*. 2018. V. 28. № 11. P. 1050–1061.
46. Merkurjev D., Hong W.T., Iida K., Oomoto I., Goldie B.J., Yamaguti H., Ohara T., Kawaguchi S.Y., Hirano T., Martin K.C., Pellegrini M., Wang D.O. // *Nat. Neurosci*. 2018. V. 21. № 7. P. 1004–1014.
47. Ma L., Zhao B., Chen K., Thomas A., Tuteja J.H., He X., He C., White K.P. // *Genome Res*. 2017. V. 27. № 3. P. 385–392.
48. Paz-Yaacov N., Levanon E.Y., Nevo E., Kinar Y., Harmelin A., Jacob-Hirsch J., Amariglio N., Eisenberg E., Rechavi G. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010. V. 107. № 27. P. 12174–12179.
49. Xiang J.F., Yang Q., Liu C.X., Wu M., Chen L.L., Yang L. // *Molecular Cell*. 2018. V. 69. № 1. P. 113–125.
50. Darnell R.R., Shengdong K.E., Darnell J.E. // *RNA*. 2018. V. 24. № 3. P. 262–267.
51. Ke S., Pandya-Jones A., Saito Y., Fak J.J., Vågbo C.B., Geula S., Hanna J.H., Black D.L., Darnell J.E., Darnell R.B. // *Genes and Development*. 2017. V. 31. № 10. P. 990–1006.
52. Wang X., Zhao B.S., Roundtree I.A., Lu Z., Han D., Ma H., Weng X., Chen K., Shi H., He C. // *Cell*. 2015. V. 161. № 6. P. 1388–1399.
53. Balacco D.L., Soller M. // *Biochemistry*. 2018. V. 58. № 5. P. 363–378.
54. Lence T., Paolantoni C., Worpenberg L., Roignant J.Y. // *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech*. 2019. V. 1862. № 3. P. 222–229.
55. Lichinchi G., Zhao B.S., Wu Y., Lu Z., Qin Y., He C., Rana T.M. // *Cell Host Microbe*. 2016. V. 20. № 5. P. 666–673.
56. Li A., Chen Y.S., Ping X.L., Yang X., Xiao W., Yang Y., Sun H.Y., Zhu Q., Baidya P., Wang X., Bhattarai D.P., Zhao Y.L., Sun B.F., Yang Y.G. // *Cell Res*. 2017. V. 27. № 3. P. 444–447.
57. Shi H., Wang X., Lu Z., Zhao B.S., Ma H., Hsu P.J., Liu C., He C. // *Cell Res*. 2017. V. 27. № 3. P. 315–328.
58. Schwartz S., Mumbach M.R., Jovanovic M., Wang T., Maciag K., Bushkin G.G., Mertins P., Ter-Ovanesyan D., Habib N., Cacchiarelli D., Sanjana N.E., Freinkman E., Pacold M.E., Satija R., Mikkelsen T.S., Hacohen N., Zhang F., Carr S.A., Lander E.S., Regev A. // *Cell Rep*. 2014. V. 8. № 1. P. 284–296.
59. Meyer K.D., Patil D.P., Zhou J., Zinoviev A., Skabkin M.A., Elemento O., Pestova T.V., Qian S.B., Jaffrey S.R. // *Cell*. 2015. V. 163. № 4. P. 999–1010.
60. Zhou J., Wan J., Gao X., Zhang X., Jaffrey S.R., Qian S.B. // *Nature*. 2015. V. 526. № 7574. P. 591–594.
61. Coots R.A., Liu X.M., Mao Y., Dong L., Zhou J., Wan J., Zhang X., Qian S.B. // *Molecular Cell*. 2017. V. 68. № 3. P. 504–514.
62. Akichika S., Hirano S., Shichino Y., Suzuki T., Nishimasu H., Ishitani R., Sugita A., Hirose Y., Iwasaki S., Nureki O., Suzuki T. // *Science*. 2019. V. 363. № 6423. P. eaav0080.
63. Molinie B., Wang J., Lim K.S., Hillebrand R., Lu Z.X., Wittenberghe N. Van, Howard B.D., Daneshvar K., Mullen A.C., Dedon P., Xing Y., Giallourakis C.C. // *Nature Methods*. 2016. V. 13. № 8. P. 692–698.
64. Hsu P.J., Zhu Y., Ma H., Guo Y., Shi X., Liu Y., Qi M., Lu Z., Shi H., Wang J., Cheng Y., Luo G., Dai Q., Liu M., Guo X., Sha J., Shen B., He C. // *Cell Research*. 2017. V. 27. № 9. P. 1115–1127.
65. Sossin W.S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018. V. 115. № 48. P. 12086–12088.
66. Wang Y., Li Y., Toth J.I., Petroski M.D., Zhang Z., Zhao J.C. // *Nature Cell Biology*. 2014. V. 16. № 2. P. 191–198.
67. Huang H., Weng H., Sun W., Qin X., Shi H., Wu H., Zhao B.S., Mesquita A., Liu C., Yuan C.L., Hu Y.C., Hüttelmaier S., Skibbe J.R., Su R., Deng X., Dong L., Sun M., Li C., Nachtergaele S., Wang Y., Hu C., Ferchen K., Greis K.D., Jiang X., Wei M., Qu L., Guan J.L., He C., Yang J., Chen J. // *Nat. Cell Biol*. 2018. V. 20. № 9. P. 285–295.
68. Pendleton K.E., Chen B., Liu K., Hunter O. V., Xie Y., Tu B.P., Conrad N.K. // *Cell*. 2017. V. 169. № 5. P. 824–835.
69. Mendel M., Chen K.M., Homolka D., Gos P., Pandey R.R., McCarthy A.A., Pillai R.S. // *Mol. Cell*. 2018. V. 71. № 6. P. 986–1000.
70. Choe J., Lin S., Zhang W., Liu Q., Wang L., Ramirez-Moya J., Du P., Kim W., Tang S., Sliz P., Santisteban P., George R.E., Richards W.G., Wong K.K., Locker N., Slack F.J., Gregory R.I. // *Nature*. 2018. V. 561. № 7724. P. 556–560.
71. Jia G., Fu Y., Zhao X., Dai Q., Zheng G., Yang Y., Yi C., Lindahl T., Pan T., Yang Y.G., He C. // *Nat. Chem. Biol*. 2011. V. 7. № 12. P. 885–887.
72. Mauer J., Luo X., Blanjoie A., Jiao X., Grozhik A. V., Patil D.P., Linder B., Pickering B.F., Vasseur J.J., Chen Q., Gross S.S., Elemento O., Debart F., Kiledjian M., Jaffrey S.R. // *Nature*. 2017. V. 541. № 7637. P. 371–375.
73. Krüttner S., Caroni P. // *Cell Res*. 2019. V. 29. № 1. P. 4–5.
74. Shi H., Zhang X., Weng Y.L., Lu Z., Liu Y., Lu Z., Li J., Hao P., Zhang Y., Zhang F., Wu Y., Delgado J.Y., Su Y., Patel M.J., Cao X., Shen B., Huang X., Ming G.L., Zhuang X., Song H., He C., Zhou T. // *Nature*. 2018. V. 563. № 7730. P. 249–253.
75. Lence T., Soller M., Roignant J.Y. // *RNA Biology*. 2017. № 9. P. 1232–1240.
76. Robbens S., Rouzé P., Cock J.M., Spring J., Worden A.Z., Van de Peer Y. // *J. Mol. Evol*. 2008. V. 66. № 1. P. 80–84.
77. Ueda Y., Ooshio I., Fusamae Y., Kitae K., Kawaguchi M., Jingushi K., Hase H., Harada K., Hirata K., Tsujikawa K. // *Sci Rep*. 2017. V. 7. P. 42271.
78. Yang Y., Hsu P.J., Chen Y.S., Yang Y.G. // *Cell Research*. 2018. V. 28. № 6. P. 616–624.
79. Rajacka V., Skalicky T., Vanacova S. // *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech*. 2019. V. 1862. № 3. P. 343–355.
80. Walters B.J., Mercaldo V., Gillon C.J., Yip M., Neve R.L., Boyce F.M., Frankland P.W., Josselyn S.A. // *Neuropsychopharmacology*. 2017. V. 42. № 7. P. 1502–1510.

81. McTaggart J.S., Lee S., Iberl M., Church C., Cox R.D., Ashcroft F.M. // PLoS ONE. 2011. V. 6. № 11. P. e27968.
82. Zheng G., Dahl J.A., Niu Y., Fedorcsak P., Huang C.M., Li C.J., Vågbo C.B., Shi Y., Wang W.L., Song S.H. // RNA Biology. 2013. V. 49. № 1. P. 18–29.
83. Li L., Zang L., Zhang F., Chen J., Shen H., Shu L., Liang F., Feng C., Chen D., Tao H., Xu T., Li Z., Kang Y., Wu H., Tang L., Zhang P., Jin P., Shu Q., Li X. // Human Molecular Genetics. 2017. V. 26. № 13. P. 2398–2411.
84. Hess M.E., Hess S., Meyer K.D., Verhagen L.A.W., Koch L., Brönneke H.S., Dietrich M.O., Jordan S.D., Saletore Y., Elemento O., Belgardt B.F., Franz T., Horvath T.L., Rütther U., Jaffrey S.R., Kloppenburg P., Brüning J.C. // Nature Neuroscience. 2013. V. 16. № 8. P. 1042–1048.
85. Engel M., Eggert C., Kaplick P.M., Eder M., Röh S., Tietze L., Namendorf C., Arloth J., Weber P., Rex-Haffner M., Geula S., Jakovcevski M., Hanna J.H., Leshkowitz D., Uhr M., Wotjak C.T., Schmidt M.V., Deussing J.M., Binder E.B., Chen A. // Neuron. 2018. V. 99. № 2. P. 389–403.
86. Li H., Ren Y., Mao K., Hua F., Yang Y., Wei N., Yue C., Li D., Zhang H. // Biochemical and Biophysical Research Communications. 2018. V. 498. № 1. P. 234–239.
87. Mathiyalagan P., Adamiak M., Mayourian J., Sassi Y., Liang Y., Agarwal N., Jha D., Zhang S., Kohlbrenner E., Chepurko E., Chen J., Trivieri M.G., Singh R., Bouchareb R., Fish K., Ishikawa K., Lebeche D., Hajjar R.J., Sahoo S. // Circulation. 2019. V. 139. № 4. P. 518–532.
88. Fornasiero E.F., Mandad S., Wildhagen H., Alevra M., Rammner B., Keihani S., Opazo F., Urban I., Ischebeck T., Sakib M.S., Fard M.K., Kirli K., Centeno T.P., Vidal R.O., Rahman R.U., Benito E., Fischer A., Dennerlein S., Rehling P., Feussner I., Bonn S., Simons M., Urlaub H., Rizzoli S.O. // Nat. Commun. 2018. V. 9. № 1. P. 4230.
89. Lin L., Hales C.M., Garber K., Jin P. // Human Molecular Genetics. 2014. V. 23. № 12. P. 3299–3306.
90. Ma H., Groth R.D., Cohen S.M., Emery J.F., Li B., Hoedt E., Zhang G., Neubert T.A., Tsien R.W. // Cell. 2014. V. 159. № 2. P. 281–94.
91. Gulati P., Avezov E., Ma M., Antrobus R., Lehner P., O'Rahilly S., Yeo G.S.H. // Bioscience Reports. 2014. V. 34. № 5. P. 621–628.
92. Lu Y., Christian K., Lu B. // Neurobiology of Learning and Memory. 2008. V. 89. № 3. P. 312–323.
93. Spsychala A., Rütther U. // PLoS One. 2019. V. 14. № 2. P. e0211937.
94. Zhu T., Yong X.L.H., Xia D., Widagdo J., Anggono V. // J. Molecular Biology. 2018. V. 430. № 3. P. 363–371.
95. Pérez-Villegas E.M., Negrete-Díaz J.V., Porrás-García M.E., Ruiz R., Carrión A.M., Rodríguez-Moreno A., Armengol J.A. // Molecular Neurobiology. 2018. V. 55. № 2. P. 1157–1168.
96. Jiang Y.H., Armstrong D., Albrecht U., Atkins C.M., Nobels J.L., Eichele G., Sweatt J.D., Beaudet A.L. // Neuron. 1998. V. 21. № 4. P. 799–811.
97. Mertz J., Tan H., Pagala V., Bai B., Chen P.-C., Li Y., Cho J.-H., Shaw T., Wang X., Peng J. // Molecular & Cellular Proteomics. 2015. V. 14. № 7. P. 1898–1910.
98. Wu R., Li A., Sun B., Sun J.-G., Zhang J., Zhang T., Chen Y., Xiao Y., Gao Y., Zhang Q., Ma J., Yang X., Li-ao Y., Lai W.-Y., Qi X., Wang S., Shu Y., Wang H.-L., Wang F., Yang Y.-G., Yuan Z. // Cell Research. 2018. V. 29. № 1. P. 23–41.
99. Fu Y., Jia G., Pang X., Wang R.N., Wang X., Li C.J., Smemo S., Dai Q., Bailey K.A., Nobrega M.A., Han K.L., Cui Q., He C. // Nature Communications. 2013. V. 4. P. 1798.
100. Ho A.J., Stein J.L., Hua X., Lee S., Hibar D.P., Leow A.D., Dinov I.D., Toga A.W., Saykin A.J., Shen L., Foroud T., Pankratz N., Huentelman M.J., Craig D.W., Gerber J.D., Allen A.N., Corneveaux J.J., Stephan D.A., DeCarli C.S., DeChairo B.M., Potkin S.G., Jack C.R. Jr, Weiner M.W., Raji C.A., Lopez O.L., Becker J.T., Carmichael O.T., Thompson P.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. № 18. P. 8404–9.
101. Benedict C., Jacobsson J.A., Rönnemaa E., Sällman-Almén M., Brooks S., Schultes B., Fredriksson R., Lanfjelt L., Kilander L., Schiöth H.B. // Neurobiol Aging. 2011. V. 1159. № 6. P. 1–5.
102. Keller L., Xu W., Wang H.X., Winblad B., Fratiglioni L., Graff C. // J. Alzheimers Dis. 2011. V. 23. № 3. P. 461–9.
103. Widagdo J., Anggono V. // J. Neurochem. 2018. V. 147. № 2. P. 137–152.
104. Arguello A.E., DeLiberto A.N., Kleiner R.E. // J. Am. Chem. Soc. 2017. V. 139. № 48. P. 17249–17252.
105. Edupuganti R.R., Geiger S., Lindeboom R.G.H., Shi H., Hsu P.J., Lu Z., Wang S.Y., Baltissen M.P.A., Jansen P.W.T.C., Rossa M., Müller M., Stunnenberg H.G., He C., Carell T., Vermeulen M. // Nat. Struct. Mol. Biol. 2017. V. 24. № 10. P. 870–878.
106. Zhang F., Kang Y., Wang M., Li Y., Xu T., Yang W., Song H., Wu H., Shu Q., Jin P. // Hum Mol Genet. 2018. V. 27. № 22. P. 3936–3950.
107. Verkerk A.J., Pieretti M., Sutcliffe J.S., Fu Y.H., Kuhl D.P., Pizzuti A., Reiner O., Richards S., Victoria M.F., Zhang F.P. // Cell. 1991. V. 65. № 5. P. 905–14.
108. Zhang F., Kang Y., Wang M., Li Y., Xu T., Yang W., Song H., Wu H., Shu Q., Jin P. // Hum. Mol. Genet. 2018. V. 27. P. 3936–3950.
109. Alarcón C.R., Lee H., Goodarzi H., Halberg N., Tavazoie S.F. // Nature. 2015. V. 519. № 7544. P. 482–5.
110. Chen T., Hao Y.J., Zhang Y., Li M.M., Wang M., Han W., Wu Y., Lv Y., Hao J., Wang L., Li A., Yang Y., Jin K.X., Zhao X., Li Y., Ping X.L., Lai W.Y., Wu L.G., Jiang G., Wang H.L., Sang L., Wang X.J., Yang Y.G., Zhou Q. // Cell Stem Cell. 2015. V. 16. № 3. P. 289–301.
111. Slavoff S.A., Mitchell A.J., Schwaib A.G., Cabili M.N., Ma J., Levin J.Z., Karger A.D., Budnik B.A., Rinn J.L., Saghatelian A. // Nat. Chem. Biol. 2013. V. 9. № 1. P. 59–64.
112. Zhou J., Wan J., Shu X.E., Mao Y., Liu X.M., Yuan X., Zhang X., Hess M.E., Brüning J.C., Qian S.B. // Mol. Cell. 2018. V. 69. № 4. P. 636–647.
113. Calvo S.E., Pagliarini D.J., Mootha V.K. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. № 18. P. 7507–12.

114. *Slobodin B., Han R., Calderone V., Vrieling J.A.F.O., Loayza-Puch F., Elkon R., Agami R.* // *Cell*. 2017. V. 169(2). P. 326–337.
115. *Wei C., Gershowitz A., Moss B.* // *Nature*. 1975. V. 257. № 5523. P. 251–3.
116. *Boulias K., Toczyłowska-Socha D., Hawley B.R., Liberman N., Takashima K., Zaccara S., Guez T., Vasseur J.J., Debart F., Aravind L., Jaffrey S.R., Greer E.L.* // *Mol. Cell*. 2019. V. 75. № 3. P. 631–643.
117. *Zhang X., Wei L.H., Wang Y., Xiao Y., Liu J., Zhang W., Yan N., Amu G., Tang X., Zhang L., Jia G.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019. V. 116. № 8. P. 2919–2924.
118. *Wei J., Liu F., Lu Z., Fei Q., Ai Y., He P.C., Shi H., Cui X., Su R., Klungland A., Jia G., Chen J., He C.* // *Mol. Cell*. 2018. V. 71. № 6. P. 973–985.
119. *Gulati P., Cheung M.K., Antrobus R., Church C.D., Harding H.P., Tung Y.C., Rimmington D., Ma M., Ron D., Lehner P.J., Ashcroft F.M., Cox R.D., Coll A.P., O’Rahilly S., Yeo G.S.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. V. 110. № 7. P. 2557–62.
120. *Cheung M.K., Gulati P., O’Rahilly S., Yeo G.S.* // *Int. J. Obes (Lond)*. 2013. V. 37. № 5. P. 744–7.
121. *Li X., Zhao Q., Wei W., Lin Q., Magnan C., Emami M.R., Wearick-Silva L.E., Viola T.W., Marshall P.R., Yin J., Madugalle S.U., Wang Z., Nainar S., Vågbo C.B., Leighton L.J., Zajackowski E.L., Ke K., Grassi-Oliveira R., Bjørås M., Baldi P.F., Spitale R.C., Bredy T.W.* // *Nat. Neurosci*. 2019. V. 22. № 4. P. 534–544.
122. *Parashar N.C., Parashar G., Nayyar H., Sandhir R.* // *Biochimie*. 2018. V. 144. P. 56–62.
123. *Koranda J.L., Dore L., Shi H., Patel M.J., Vaasjo L.O., Rao M.N., Chen K., Lu Z., Yi Y., Chi W., He C., Zhuang X.* // *Neuron*. 2018. V. 99. № 2. P. 283–292.
124. *Geula S., Moshitch-Moshkovitz S., Dominissini D., Mansour A.A., Kol N., Salmon-Divon M., Hershkovitz V., Peer E., Mor N., Manor Y.S., Ben-Haim M.S., Eyal E., Yunger S., Pinto Y., Jaitin D.A., Viukov S., Rais Y., Krupalnik V., Chomsky E., Zerbib M., Maza I., Rechavi Y., Massarwa R., Hanna S., Amit I., Levanon E.Y., Amarglio N., Stern-Ginossar N., Novershtern N., Rechavi G., Hanna J.H.* // *Science*. 2015. V. 347. № 6225. P. 1002–6.
125. *Xiao W., Adhikari S., Dahal U., Chen Y.S., Hao Y.J., Sun B.F., Sun H.Y., Li A., Ping X.L., Lai W.Y., Wang X., Ma H.L., Huang C.M., Yang Y., Huang N., Jiang G.B., Wang H.L., Zhou Q., Wang X.J., Zhao Y.L., Yang Y.G.* // *Mol. Cell*. 2016. V. 61. № 4. P. 507–519.
126. *Yue Y., Liu J., Cui X., Cao J., Luo G., Zhang Z., Cheng T., Gao M., Shu X., Ma H., Wang F., Wang X., Shen B., Wang Y., Feng X., He C., Liu J.* // *Cell. Discov*. 2018. V. 4. P. 10.
127. *Poplawski S.G., Peixoto L., Porcari G.S., Wimmer M.E., McNally A.G., Mizuno K., Giese K.P., Chatterjee S., Koberstein J.N., Rizzo D., Speed T.P., Abel T.* // *Neurobiol Learn Mem*. 2016. V. 134. P. 221–35.
128. *Fleming A.M., Nguyen N.L.B., Burrows C.J.* // *ACS Cent Sci*. 2019. V. 5. № 2. P. 218–228.
129. *Spitale R.C., Flynn R.A., Zhang Q.C., Crisalli P., Lee B., Jung J.W., Kuchelmeister H.Y., Batista P.J., Torre E.A., Kool E.T., Chang H.Y.* // *Nature*. 2015. V. 519. № 7544. P. 486–90.
130. *Liu N., Dai Q., Zheng G., He C., Parisien M., Pan T.* // *Nature*. 2015. V. 518. № 7540. P. 560–4.
131. *Liu N., Zhou K.I., Parisien M., Dai Q., Diatchenko L., Pan T.* // *Nucleic Acids Res*. 2017. V. 45. № 10. P. 6051–6063.
132. *Fukuchi M., Tsuda M.* // *J. Neurochem*. 2010. V. 115. № 5. P. 1222–33.
133. *Vanevski F., Xu B.* // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 2. P. e117264.
134. *Allen M., Bird C., Feng W., Liu G., Li W., Perrone-Bizzozero N.I., Feng Y.* // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 1. P. e55718.
135. *Subramanian M., Rage F., Tabet R., Flatter E., Mandel J.L., Moine H.* // *EMBO Rep*. 2011. V. 12. № 7. P. 697–704.
136. *Asok A., Leroy F., Rayman J.B., Kandel E.R.* // *Trends Neurosci*. 2019. V. 42. № 1. P. 14–22.
137. *Smalheiser N.R.* // *Biol. Direct*. 2007. V. 2. P. 35.
138. *Marshall P.R., Bredy T.W.* // *Psychopharmacology*. 2019. V. 236. № 1. P. 133–142.
139. *Wang C.X., Cui G.S., Liu X., Xu K., Wang M., Zhang X.X., Jiang L.Y., Li A., Yang Y., Lai W.Y., Sun B.F., Jiang G.B., Wang H.L., Tong W.M., Li W., Wang X.J., Yang Y.G., Zhou Q.* // *PLoS Biol*. 2018. V. 16. № 6. P. e2004880.
140. *Fustin J.M., Doi M., Yamaguchi Y., Hida H., Nishimura S., Yoshida M., Isagawa T., Morioka M.S., Kakeya H., Manabe I., Okamura H.* // *Cell*. 2013. V. 155. № 4. P. 793–806.
141. *Seth D., Kasowitz, Jun Ma, Stephen J. Anderson, N. Adrian Leu, Brian D. Gregory, Richard M. Schultz, P. Jeremy Wang* // *PLoS Genet*. 2018. V. 14. № 5. P. e1007412.
142. *Michaela Müller-McNicoll, Valentina Botti, Antonio M. de Jesus Domingues, Holger Brandl, Oliver D. Schwich, Michaela C. Steiner, Tomaz Curk, Ina Poser, Kathi Zarnack, Karla M.* // *Genes Dev*. 2016. V. 30. № 5. P. 553–566.
143. *Brittany M. Edens, Caroline Vissers, Jing Su, Saravanan Arumugam, Zhaofa Xu, Han Shi, Nimrod Miller, Francisca Rojas Ringeling, Guo-Li Ming, Chuan He, Hongjun Song, Yongchao C. Ma.* // *Cell Rep*. 2019. V. 28. № 4. P. 845–854.e5.
144. *Phillip J Hsu, Hailing Shi, Allen C Zhu, Zhike Lu, Nimrod Miller, Brittany M Edens, Yongchao C Ma, Chuan He.* // *J. Biol. Chem*. 2019. V. 294. № 52. P. 19889–19895.
145. *Yuanhui Mao, Leiming Dong, Xiao-Min Liu, Jiayin Guo, Honghui Ma, Bin Shen, and Shu-Bing Qian.* // *Nat. Commun*. 2019. V. 10. P. 5332.
146. *Junhong Choi, Ka-Weng Jeong, Hasan Demirci, Jin Chen, Alexey Petrov, Arjun Prabhakar, Seán E O’Leary, Dan Dominissini, Gideon Rechavi, S Michael Soltis, Måns Ehrenberg, Joseph D Puglisi.* // *Nat. Struct Mol. Biol*. 2016. V. 23. № 2. P. 110–5.
147. *Ryan J. Ries, Sara Zaccara, Pierre Klein, Anthony Olarerin-George, Sim Namkoong, Brian F Pickering, Deepak P. Patil, Hojoong Kwak, Jun Hee Lee, Samie R. Jaffrey* // *Nature*. 2019. V. 571. № 7765. P. 424–428.
148. *Jiahua Wang Liyong Wang, Jianbo Diao, Yujiang Geno Shi, Yang Shi, Honghui Ma, Hongji Shen* // *Protein Cell*. 2020. V. 11. № 4. P. 304–307.

The Putative Role of m6A-RNA Methylation in Memory Consolidation

D. A. Novikov^a, A. P. Beletskiy^a, and P. M. Kolosov^a

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

The intermediate memory is one of the stages in the process of memory consolidation and completely disappears by the beginning of the manifestation of long-term memory. This stage depends on translation, but not transcription, and is also accompanied by the activation of protein synthesis. RNA modifications called epitranscriptome, especially N6-methyladenosine (m6A) methylation, may be involved in the regulation of this process. In numerous studies, a general translation-stimulating effect of m6A has been proven, and an increase in the amount of this modification in mRNA of animal neurons after training has been shown. Experimental action on individual enzymes associated with m6A resulted in both impairment and enhancement of memory consolidation. In this review, a hypothetical model of their participation in memory consolidation is put forward on the basis of data on changes in the RNA of m6A methylome and the behavior of FTO demethylase in neurons of trained animals. In addition, other epigenetic and epitranscriptome mechanisms that potentially regulate this process are considered.

Keywords: m6A RNA methylation, epitranscriptome, methylome, neuron, memory, learning

УДК 577.25;577.1

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NF-κB В НЕЙРОВОСПАЛЕНИИ

© 2021 г. И. И. Бабкина^{1,2}, С. П. Сергеева³, Л. Р. Горбачева^{1,2}, *

¹ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Поступила в редакцию 10.01.2021 г.

После доработки 11.01.2021 г.

Принята к публикации 12.01.2021 г.

Транскрипционный ядерный фактор NF-κB представляет семейство транскрипционных факторов, играющих ведущую роль в патогенезе многих хронических воспалительных процессов и в регуляции иммунных реакций. В конце прошлого столетия NF-κB преимущественно рассматривали в качестве медиатора апоптоза в клетках иммунной системы. Последующие исследования продемонстрировали его участие в процессах развития ЦНС, пластичности, дифференцировки нейронов, нейродегенерации и при травмах мозга. Однако, его роль в регуляции нейровоспаления и в выживании зрелых нейронов ЦНС оказалась противоречивой. В представленном обзоре предпринята попытка обобщить имеющиеся в литературе данные о вовлечении NF-κB в формирование ответа разных типов клеток мозга на действие провоспалительных факторов. Разные субъединицы семейства NF-κB формируют димеры, вовлечение которых в регуляцию экспрессии генов определяется типом стимула. Интересно, что NF-κB вовлекается в провоспалительную активацию микроглии и астроцитов, а в нейронах опосредованные им протекторные или дегенеративные эффекты зависят не только от типа стимула, но и от времени отсроченного ответа клетки. Стимул-зависимый характер активации NF-κB определяется широким спектром рецепторов, с которых запускаются целый ряд сигнальных каскадов клетки, завершающихся активацией транскрипционного фактора. Рецепторы фактора некроза опухоли (TNFR), или рецепторы смерти, толл-подобные рецепторы (TLR), рецепторы, активируемые протеазами (PAR) – вот только часть рецепторов плазматической мембраны, способных инициировать внутриклеточные каскады, ведущие к активации NF-κB. Важным фактом является возможность модулирования активности NF-κB и его эффектов другими факторами транскрипции. STAT1, STAT3, Sirt1 – вот те молекулы, которые, как показывают последние исследования, способны изменять характер NF-κB-опосредованных клеточных ответов. Итак, NF-κB – фактор транскрипции, один из ключевых факторов, определяющий исход негативных влияний на нервную систему, в связи с чем представляющий определенный интерес для терапии нейродегенеративных процессов, связанных с воспалением, в качестве фармакологической мишени.

Ключевые слова: NF-κB, микроглия, нейроны, нейровоспаление, толл-подобные рецепторы (TLR), рецепторы фактора некроза опухоли (TNFR), активные формы кислорода (ROS)

DOI: 10.31857/S1027813321020047

ВВЕДЕНИЕ

Транскрипционный ядерный фактор NF-κB представляет семейство транскрипционных факторов, играющих ведущую роль в патогенезе воспалительных процессов и иммунных реакций, через регуляцию экспрессии генов, кодирующих цитокины, хемокины, белки острой фазы, молекулы адгезии, индуцибельные ферменты [1, 2]. Более того, тяжелые заболевания человека, такие как рак, аутоиммунные заболевания, диабет обоих типов и др., сопровождаются нарушением работы сиг-

нальных механизмов, сопряженных с NF-κB [3]. Примером тому является способность NF-κB запускать процесс фосфорилирования IRS-1 по остаткам серина, что ингибирует передачу инсулинового сигнала [4]. Со времени открытия NF-κB [5] и его роли как медиатора апоптоза в клетках иммунной системы [6] ученые активно изучали его функции, в том числе и в нервной системе.

Экспрессия NF-κB показана во всех типах клеток головного мозга. Наибольшее количество представителей семейства NF-κB обнаружено в церебральных кровеносных сосудах и глиальных клетках. В последние годы наблюдается стремительный рост числа работ, посвященных участию

* Адресат для корреспонденции: 119991 Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, e-mail: gorbic67@mail.ru.

NF-κB в процессах развития, пластичности, нейрональной дифференцировки, нейродегенерации и травмах мозга [7–11]. Однако, данные о его роли в регуляции нейровоспаления и в выживании зрелых нейронов ЦНС оказались противоречивыми. Показано, что базальный уровень NF-κB в нейронах необходим для поддержания их нормального функционирования, роста синапсов и синаптической пластичности, а его повышение обеспечивает нейропротекцию при отдельных патологиях [12, 13]. Так, было обнаружено, что ингибирование NF-κB в нейронах переднего мозга приводит к их апоптозу в результате нейротоксического поражения [14], а в кортикальных нейронах этот фактор может предотвратить апоптоз при экспериментальной ишемии мозга [15]. Активация же NF-κB необходима для поддержания гомеостаза и целостности нейронов [16–18].

В то же время для глии характерна низкая базальная активность NF-κB, а экспрессия генов, индуцированная NF-κB, защищает нейроны, но вместе с тем, хроническая или чрезмерная активация NF-κB демонстрирует токсический эффект [12, 13, 19–22].

В связи с этим, особенно важны четкая систематизация и обобщение уже имеющихся экспериментальных данных о вовлечении NF-κB в воспалительные процессы ЦНС для дальнейшего изучения роли фактора NF-κB в процессах нейровоспаления разной этиологии и локализации.

СЕМЕЙСТВО БЕЛКОВ NF-κB

Транскрипционный фактор NF-κB был впервые идентифицирован Дэвидом Балтимором в 1986 году в клетках В лимфоцитов, как плейотропный транскрипционный фактор, связанный с κB в энхансере гена легкой каппа-цепи иммуноглобулина [5].

NF-κB является гетеродимерным комплексом и включает белки двух подсемейств: NF-κB и гомологи вирусного онкогена ретикулоэндотелиоза (Rel). Семейство факторов транскрипции NF-κB у млекопитающих состоит из пяти белков: p65 (RelA), RelB, c-Rel, p105/p50 (NF-κB1) и p100/p52 (NF-κB2), которые связываются друг с другом с образованием отдельных гомо- и гетеродимерных комплексов [23]. Все эти белки имеют в своем составе Rel домен – высоко консервативную N-концевую последовательность из 300 аминокислот – который необходим для димеризации, связывания с ДНК и ассоциации с белками семейства IκB – цитоплазматическим ингибитором NF-κB [24]. Структура белков подсемейства Rel включают трансактивирующий домен в C-концевой области. Синтезируются эти белки из белков-предшественников p105 и p100, которые содержат длинные C-концевые домены с несколькими ко-

пиями анкириновых повторов, обладающих ингибиторной активностью. p105 и p100 подвергаются селективной убиквитин-зависимой протеасомной деградации в C-концевой области, содержащей анкириновые повторы, что приводит к образованию активных форм p52 из p100 и p50 из p105 (рис. 1). Гомодимеры p50 и p52 играют роль репрессоров генной экспрессии, тогда как p65, c-Rel и RelB в любых сочетаниях, в том числе и с p50 и p52, играют роль активаторов транскрипции. Помимо Rel домена данные белки имеют специальные NLS (nuclear localizing signal) последовательности, которые необходимы для транспорта данных белков в ядро из цитоплазмы. Члены семейства Rel содержат активационные домены, необходимые для индукции генов, и отличаются друг от друга по своим ДНК-связывающим свойствам, которые обеспечивают дополнительный уровень контроля генов [25].

В цитоплазме NF-κB находится в виде комплекса с одним из членов семейства ингибиторных белков IκB (рис. 1). Определены пять членов семейства белков IκB: IκBα, IκBβ, IκBγ, IκBe и BCL-3. Высокая аффинность IκB к NF-κB обеспечивает жесткий контроль процесса активации этого транскрипционного фактора. Все члены семейства IκB содержат в своей структуре анкириновый повтор, который позволяет им связываться с NF-κB и обеспечивать его цитоплазматическую локализацию [26, 27]. IκB являются мишенями для разнообразных сигнальных путей, активируемых внутри- и внеклеточными стимулами (цитокины, вирусы, оксиданты, факторы роста) [24, 28–31]. Белки-предшественники p105 и p100 функционируют подобно белкам IκB, подавляя и удерживая NF-κB в цитоплазме [8] (рис. 1).

ПУТИ АКТИВАЦИИ NF-κB

Провоспалительные цитокины (TNF-α, IL1-β и др), LPS, повреждение ДНК, ионизирующее излучение [23, 32] и другие провоспалительные, токсические или повреждающие воздействия способны индуцировать фосфорилирование ИКК комплекса, в состав которого входят субъединицы ИККα, ИККβ и регуляторная субъединица ИККγ (NEMO), с его последующей диссоциацией из комплекса с NF-κB и деградацией. NF-κB, высвободившийся из ИКК комплекса, транслоцируется в ядро, где запускает индукцию фактор-зависимых генов-мишеней (рис. 1). Убиквитин участвует по крайней мере в трех стадиях пути активации NF-κB, которые включают деградацию IκB ингибитора NF-κB, процессинг предшественников NF-κB и активацию ИКК. Убиквитинирование – это обратимая ковалентная модификация, катализируемая тремя ферментативными стадиями [33].

Активация NF-κB может осуществляться по каноническому, неканоническому или альтерна-

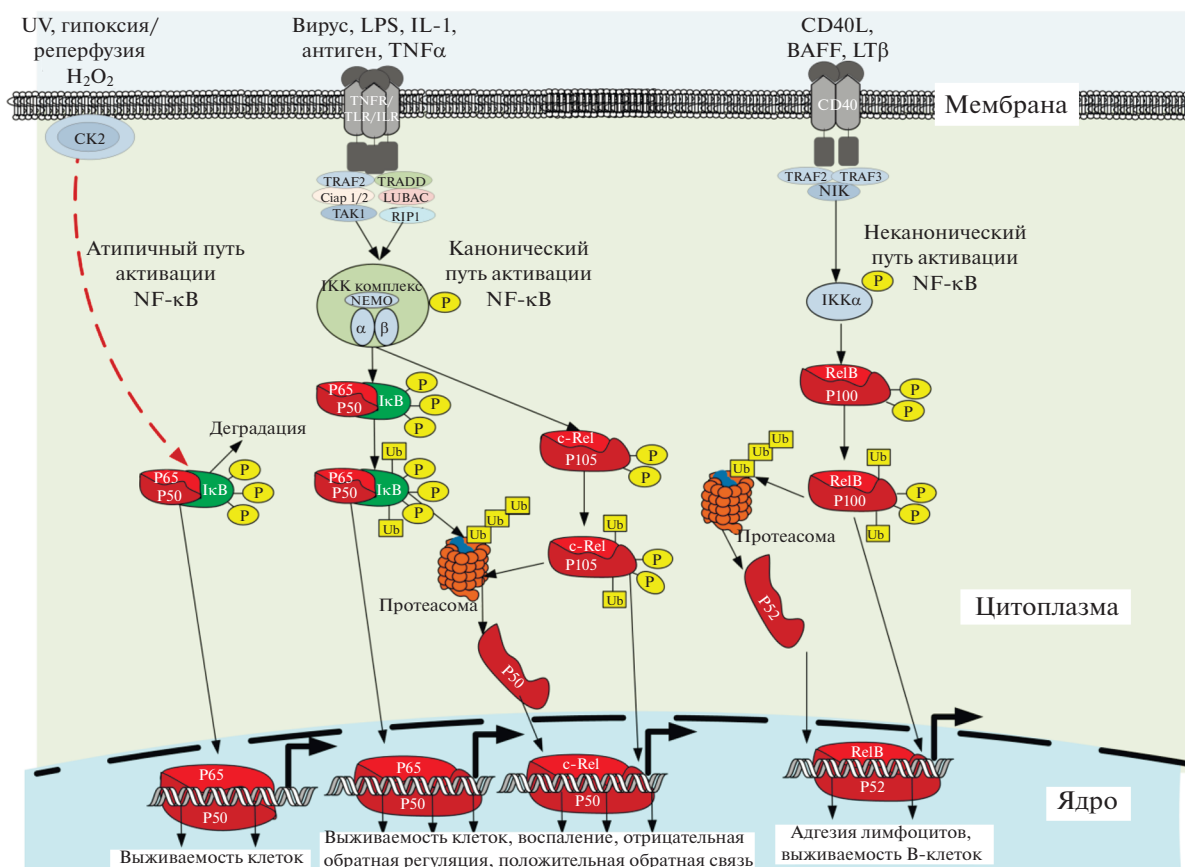


Рис. 1. Пути активации NF-κB. Канонический, неканонический и атипичный пути активации NF-κB. В условиях покоя димеры NF-κB связаны с ингибирующими IκB белками в цитоплазме. Индуцированная стимулом деградация белков IκB инициируется путем фосфорилирования комплексом киназы IκB (IKK), который состоит из двух каталитически активных киназ, IKKα и IKKβ, и регуляторной субъединицы IKKγ (NEMO). Фосфорилированные белки IκB нацелены на убиквитинирование и протеасомную деградацию, которая, таким образом, высвобождает связанные димеры NF-κB с последующим их перемещением в ядро. Канонический путь активации NF-κB индуцируется большинством физиологических стимулов, например, цитокинами через TNFR1. Стимуляция TNFR1 приводит к связыванию TRADD, который обеспечивает платформу сборки для рекрутирования FADD и TRAF2. TRAF2 связывается с RIP1 для активации IKK. В каноническом пути IκBα фосфорилируется IKKβ- и NEMO-зависимым образом, что приводит к ядерной транслокации в основном p65-содержащих гетеродимеров. Неканонический путь (справа), индуцируемый некоторыми цитокинами семейства TNF, такими как CD40L, BAFF и лимфотоксин-β (LT-β, LT-βR, рецептор лимфотоксина-β), включает IKKα-опосредованное фосфорилирование p100, связанного с RelB, что приводит к частичному процессингу p100 и генерации активных гетеродимеров p52-RelB. Активация IKKα и фосфорилирование p100 зависит от NIK, который подвергается сложной регуляции с помощью TRAF3, TRAF2 и дополнительных убиквитинлигаз. Атипичный путь (слева) активации NF-κB запускается в ответ на гипоксию, ультрафиолетовое излучение, перекиси и др., не зависит от IKKβ и NEMO и требует киназы 2 (CK2) вместо IKK.

тивному (атипичному) пути [3, 8, 34] (рис. 1). Первый путь сопровождается образованием димеров p50/p65 или p50/c-Rel и запускается в ответ на инфекцию, провоспалительные цитокины и ростовые факторы. В результате активируется IKKβ (IκB kinase β) [8, 35, 36], которая фосфорилирует IκB, с высвобождением димеров NF-κB и перемещением последних в ядро. Канонические сигнальные пути NF-κB являются временными, а транскрипционные реакции ограничены ауторегуляторными механизмами, которые вовлекают NF-κB-зависимую индукцию негативных регуляторов, таких как IκBα или убиквитин-редактиру-

ющий фермент A20 (TNFAIP3), препятствующих активации IKKβ [37].

Неканонический путь активации запускается специфическими членами TNF семейства цитокинов, такими как CD40L, лимфотоксин β (LTβ) и активирующий фактор В-клеток (BAFF) [36]. Данный путь зависит от IKKα-опосредованного фосфорилирования p100, связанного с RelB, что приводит к образованию p52/RelB комплекса [38] (рис. 1). Атипичный путь активации NF-κB запускается в ответ на гипоксию, ультрафиолетовое излучение, перекиси и др., не зависит от IKKβ и NEMO и требует киназы 2 (CK2) вместо

ИКК. Деградация ингибитора NF- κ B реализуется без участия протеасом, с использованием калпаин-зависимых механизмов. Это событие приводит к разрушению цитоплазматических ингибиторов после чего димеры NF- κ B, способны транслоцироваться в ядро [38] (рис. 1).

NF- κ B-зависимая транскрипция гена включает рекрутинг субъединицы RelA/p65 для узнавания геномных сайтов κ B и требует транскрипционных коактиваторов, которые индуцируют специфичные для последовательности активаторы и приводят к изменению структуры хроматина и индукции транскрипции. Одним из известных коактиваторов субъединицы RelA/p65 является СВР-связывающий белок и его структурный гомолог р300. Протеинкиназа А (РКА) фосфорилирует субъединицу р65 и усиливает ее связь с РСАФ. РСАФ является членом семейства гистонацетилтрансфераз и индуцирует ацетилирование, изменяет хроматин и приводит к индукции транскрипции. Обнаружено обогащенное ацетилирование гистонов на промоторах провоспалительных цитокинов (таких как IL-1, IL-2, IL-8 и IL-12) с повышенной активацией транскрипции этого гена в результате воспаления.

KLF – семейство Krüppel-подобных ДНК-связывающих факторов транскрипции с консервативными доменами, известными как цинковые пальцы – играют разнообразную роль в биологических процессах, в том числе дифференциации, развитии, росте и воспалении. Известна роль KLF2 в NF- κ B-опосредованной регуляции воспаления. А именно, NF- κ B ингибирует экспрессию KLF2 посредством прерывания связывания факторов MADS-бокса фактора энхансера транскрипции 2 (MEF2) и доступа молекул гистондеацетилазы (HDAC) к промотору KLF2 [39]. При этом, KLF2 ингибирует транскрипционную активность NF- κ B, напрямую взаимодействуя с р300 и РСАФ, которые являются критическими ко-активаторами для NF- κ B-опосредованной транскрипционной активности [40]. KLF2 уменьшает рекрутирование коактиваторов в NF- κ B, а также ослабляет ацетилирование гистона 3 по лизину 9 (H3K9) и гистону 4 по лизину 8 (H4K8) [39].

Обнаружено, что эффект активации NF- κ B является временным, при этом ядерная форма остается активной менее часа. Активированный NF- κ B также индуцирует транскрипцию генов, кодирующих белки I κ B, и приводит к петле обратной связи по ингибированию белками I κ B. Вновь синтезированный I κ B перемещается в ядро и образует комплексы с гетеродимером NF- κ B (р65-р50), прерывает связывание с сайтами κ B, а комплекс р65-р50-I κ B перемещается в цитоплазму.

Множество генов, регулируемых NF- κ B, содержат одну или несколько NF- κ B связывающих последовательностей. Видимо, в регуляции разных генов, индуцируемых в ответ на разные сти-

мулы, участвуют разные комбинации субъединиц NF- κ B [41, 42]. Например, в ответ на действие TNF α в ядро быстро транслоцируются димерные комплексы р50-р65, р50-с-Rel, р65-с-Rel, р52-с-Rel и р52-р65. Это связывают с необходимостью разных димеров для регуляции разных генов [41–43].

МОДУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССА АКТИВАЦИИ NF- κ B

NF- κ B уникален тем, что может активироваться широким спектром внутриклеточных сигнальных каскадов, индуцируемых воспалительными цитокинами, продуктами окисления липидов, липосахаридами, гипоксией, ROS, некоторыми микроорганизмами (сальмонеллы, шигеллы, листерии, *Helicobacter*, *E. coli*) и вирусами [44], при этом может происходить запуск порочного круга и обострение воспалительного процесса [45]. В большинстве случаев данный процесс опосредован разными типами рецепторов: рецепторами антигенов и членами суперсемейства TNFR (Tumour necrosis factor receptor), TLR (Toll-like receptors), IL-1R (Interleukin1 receptor) [3, 46] (рис. 2).

Такая особенность активации обеспечивает NF- κ B способность контролировать многие процессы, включая воспаление, апоптоз, иммунитет, выживаемость клеток и рак, при этом общепризнанна его ключевая роль в регуляции индуцируемой экспрессии генов иммунного и воспалительного ответа [47, 48]. NF- κ B-зависимая транскрипция не только строго контролируется положительными и отрицательными регуляторными механизмами, но также модулируется другими сигнальными путями, что обеспечивает преобразование разнообразных биологических функций NF- κ B в специфические, адаптивные клеточные ответы.

PI3K/Akt, MAPK и UPR как модуляторы активации NF- κ B

Известно, что сигнальные пути, такие как PI3K/Akt и MAPK, взаимодействуют с путем NF- κ B. Показано, что PI3K/Akt-опосредованное фосфорилирование и активация RelA/p65 субъединицы NF- κ B реализуется с участием как ИКК α , так и ИКК β [49]. G. Haegeman [50] предложил модель индукции провоспалительных генов, включающую несколько сигнальных путей, сопряженных с модулированием эффектов NF- κ B. С одной стороны, транскрипционный фактор NF- κ B освобождается от ингибирующего его I κ B комплекса в цитоплазме, направляется в ядро, где связывается с различными промоторами провоспалительных генов. С другой стороны, происходит активация MAPK, p38 и ERK, которые также могут запускаться через TNFR с последующей активацией их общего субстрата, MSK1. В свою очередь MSK1 фосфорилирует NF- κ B р65 по ключевому аминокислот-

ному остатку (например, Ser 276), что и обеспечивает транскрипционную активность NF-κB p65, формируя способность транскрипционного фактора к взаимодействию с ядерными коактиваторами (CREB, CBP, p300 и др.). Кроме этого, MSK1, будучи рекрутированной в регионы воспалительных промоторов, фосфорилирует хроматиновые хвосты, способствует релаксации местного хроматина и облегчает генную транскрипцию [45, 50].

Guha и Mackman показали, что ингибирование пути PI3K/Akt увеличивает LPS-индуцированную продукцию TNF-α через MAPK (ERK, p38 и JNK) и ядерную транслокацию NF-κB, индуцируя активацию GSK-3β [51].

UPR (Unfolded protein response) является интегрированным внутриклеточным сигнальным путем, который обеспечивает адаптивные реакции клетки при ER-стрессе (стресс эндоплазматического ретикулума). Исследования показали, что UPR, стимулируя активацию провоспалительных стресс-киназ, таких как IKK, JNK, активирует транскрипционные факторы NF-κB, AP-1 (Activator protein 1), и генерацию ROS, что вызывает индукцию секреции IL-1β, IL-18, TNFα, IL-6 и MCP-1, в том числе и при разных формах нарушений метаболизма глюкозы [52–54].

Сопряжение транскрипционных факторов Nrf2 и NF-κB

Другим модулятором активности NF-κB через IKK или напрямую через субъединицу p65 является фактор транскрипции Nrf2 (nuclear E2-related factor 2). В клетках Nrf2 находится под постоянным контролем репрессорного белка Keap1 (Kelch-like ECH associating protein 1), являющегося своеобразным молекулярным “сенсором” изменения внутриклеточного гомеостаза. Активация пути Nrf2 приводит к диссоциации комплекса Nrf2-Keap1 и увеличение свободного Keap1 в цитозоле. Установлено, что Keap1, связываясь с IKKβ, предотвращает фосфорилирование ингибиторного комплекса NF-κB и препятствует транслокации p65 в ядро, блокируя передачу сигналов через NF-κB [55, 56]. С другой стороны, Keap1 способен напрямую связываться с субъединицей p65 NF-κB [57]. Взаимодействие между двумя путями опосредуется также через CREB-связывающий белок (CBP), который является ко-активатором транскрипции, способным связываться как с Nrf2, так и с субъединицей p65 NF-κB [58] (рис. 3). Таким образом, Nrf2 способен регулировать NF-κB-сигнализацию, конкурируя с ним за белок CBP (рис. 3). Активация Nrf2 в ответ на острые травмы, воспаление, ксенобиотики и многие другие стимулы обеспечивает протекцию в основном через защиту клеток от окислительного повреждения. Индукция NF-κB происходит в ответ на аналогичные стимулы, что позволяет рассматривать рабо-

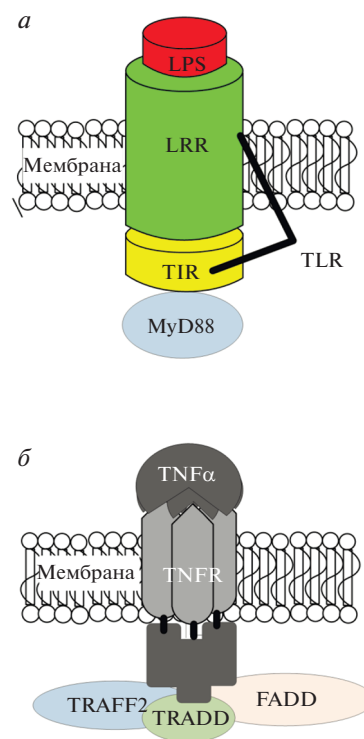


Рис. 2. Рецепторы цитокинов. Структура рецептора TLR. MyD88 – критический домен рецепторного комплекса TLR и важный адаптерный белок сигнального пути NF-κB, способствующий экспрессии воспалительных генов (a). Структура рецептора TNFR1. TNF-α связывается со своим рецептором (TNFR1), а белок домена смерти (TRADD) обеспечивает связывание нейровоспаления и апоптоза.

ту сигнальных каскадов Nrf2-NF-κB как целостного механизма, направленного на уравновешивание активности друг друга [59, 60] (рис. 3).

Участие сигнального пути JAK2/STAT3 в модуляции активации NF-κB

Известно, что цитокины и окислительный стресс индуцируют фосфорилирование JAK2 и активацию фактора транскрипции STAT3, тем самым способствуя ассоциированной с воспалением экспрессии генов [61]. В связи с этим, можно предположить сопряжение этого сигнального каскада с активацией NF-κB. Guzzo с соавторами было продемонстрировано [62] участие JAK2/STAT3 в регуляции транскрипционной активности NF-κB, о чем свидетельствует снижение ДНК-связывающей активности субъединиц p50 и p65 NF-κB на фоне предварительного ингибирования JAK2/STAT3. Другие исследования подтвердили, что транскрипционная активность NF-κB и STAT тесно связана с их ацетилированием по лизину, которое регулируется балансом между гистоновыми аце-

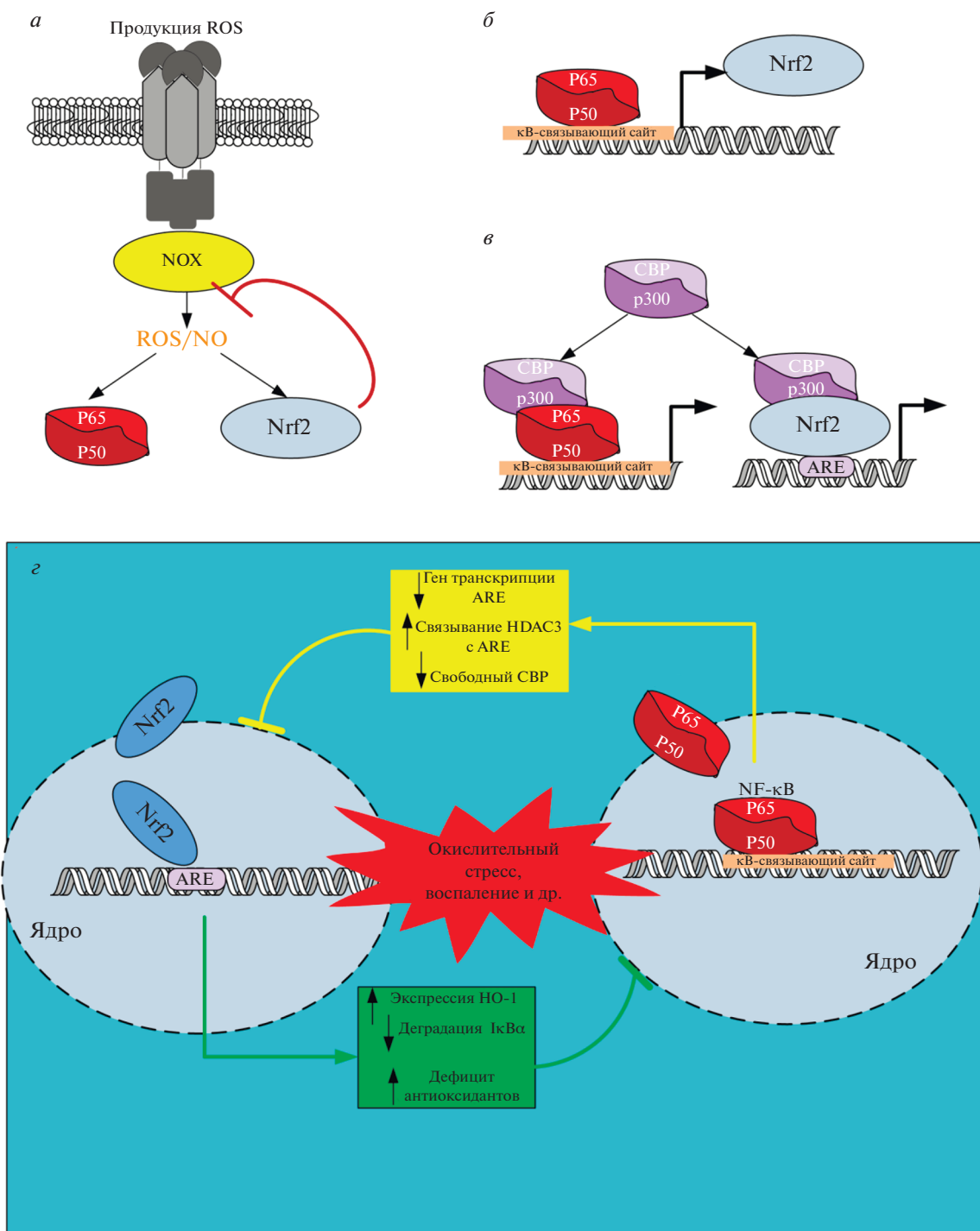


Рис. 3. Взаимная модуляция активности транскрипционных факторов NF-κB и Nrf2, происходящая на разных уровнях. Активные формы кислорода (ROS), продуцируемые во время воспаления, активируют NF-κB и Nrf2. Nrf2, снижая уровень активных форм кислорода, вызывает снижение активности NF-κB (а). Сайты связывания NF-κB идентифицированы в промоторной области NFE2L2 (б). Факторы транскрипции Nrf2 и NF-κB конкурируют за связывание с коактиватором транскрипции CREB-связывающим белком (CBP/p300). Схема взаимной модуляции транскрипционной активности NF-κB и Nrf2 (г). Сокращения: NO-1 – гемоксигеназа-1, HDAC3 – гистондиацетилаза 3, NOX – NADPH-оксидазы, CBP – CREB связывающий белок.

тилтрансферазами (HATs) и гистоновыми деацетилазами (HDAC) [63].

Особый интерес в контексте регуляции транскрипционной активности NF-κB представляют сиртуины (Silent Information Regulator 2 proteins, SIR2, у млекопитающих это гомологичный белок SIRT1), третий класс НАД-зависимых гистоновых деацетилаз. Показано, что SIRT1 и SIRT6 снижают транскрипционную активность NF-κB. SIRT1 деацетилирует NF-κB p65 по остатку лизина 310, что способствует его эффективному связыванию с IκB, снижая связывание с промотором целевого гена и экспрессию соответствующих цитокинов [64–66]. Кроме того, было показано, что активация SIRT1 подавляет передачу сигналов JAK2/STAT3/NF-κB при β-амилоидной нейротоксичности [67]. SIRT6, связывается с субъединицей RELA NF-κB, приближается к промоторам генов, экспрессию которых регулирует NF-κB, деацетилирует гистон H3 по девятому остатку лизина, что способствует конденсации хроматина и, следовательно, ослабляет действие NF-κB.

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ И NF-κB

Нейровоспаление как особый тип воспалительного процесса

Воспаление, как биологический процесс, инициируемый в ответ на повреждение, инфекцию и травму, нанесенную клеткам или тканям в пределах нервной системы, имеет ряд особенностей. В частности, это связано со спецификой врожденного и адаптивного иммунитета мозга по отношению к периферии. Нейровоспаление может быть отрицательным фактором. Так хроническое воспаление с участием активированной микроглии и астроглии становится отличительной чертой многих заболеваний человека, включая нейродегенерацию [68, 69]. Иммунная активация в ЦНС также включает микроглию (резидентные макрофаги) и астроциты (потенциально иммунокомпетентные клетки), которые в условиях нормы вносят свой вклад в регуляцию гомеостаза ткани мозга. Наряду с нейроглией клетки эндотелия и периваскулярные макрофаги также важны для интерпретации и распространения воспалительных сигналов в ЦНС [70] (рис. 4). Микроглия сканирует микросреду, продуцируя факторы, которые влияют на соседние астроциты и нейроны, особенно в ответ на инфекцию или повреждение. Это приводит к активации воспалительного ответа, который в дальнейшем включает временный, самоограничивающийся ответ через иммунную систему и инициирует восстановление тканей. В патологических условиях, когда нормальные механизмы разрешения не работают, происходит аномальная активация и повышенная продукция воспалительных факторов, что приводит к хроническому

нейровоспалению и прогрессированию нейродегенеративных изменений (рис. 4). Нейродегенеративные факторы влияют на функцию глии за счет сверхактивации как микроглии, так и астроцитов, вызывая производство и высвобождение большого количества провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода и азота (ROS, RNS). Хроническая активация микроглии связана с деградацией белка, дисфункцией митохондрий и дефектами аксонального транспорта и апоптоза, которые пагубно влияют на функцию нейронов и приводят к гибели клеток. Кроме того, нейровоспаление приводит к последующей инфильтрации клеток иммунной системы от периферии к ЦНС через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что ускоряет нейровоспаление и нейродегенерацию [71] (рис. 4). Практически во всех этих процессах активно участвует NF-κB.

Интересно, что результат активации NF-κB имеет определенную клеточную специфичность, так в нейронах он способствует преимущественно выживанию и пластичности. С другой стороны, активация NF-κB в глиальных клетках играет важную роль в воспалительных процессах, которые в большинстве своем ведут к нейродегенерации [19].

Роль TLR/NF-κB сигнального пути в регуляции нейровоспаления

Как видно, из предыдущего раздела данного обзора, во всех эукариотических клетках большинство внеклеточных сигналов, включая инфекции, воспалительные цитокины и множественные стрессовые факторы, могут активировать NF-κB. Одними из важных структур мембраны, обеспечивающих передачу сигналов в системе врожденного иммунитета и воспалительной реакции, являются Toll-подобные рецепторы (TLR) (рис. 2). Микроглия экспрессирует ряд TLR, которые активируют эти клетки и инициируют нейровоспалительную реакцию [72]. Миелоидный дифференцирующий фактор 88 (MyD88), являясь адаптерным белком, связывается с TLR через их TIR-домены, что активирует несколько путей передачи сигнала и, в конце концов, приводит к активации NF-κB и воспалению (рис. 2). MyD88 играет роль в инфицировании ЦНС и последующей активации астроцитов. Он может также участвовать в повреждениях зрительного нерва, болезни Паркинсона и болезни Альцгеймера [73, 74]. Пути передачи сигналов TLR4/MyD88/NF-κB могут быть полезной терапевтической мишенью для фармакологического лечения нейровоспалительных повреждений [75]. Функционирование некоторых TLR может зависеть от ко-рецепторов. Например, TLR4 для распознавания бактериального липополисахарида (LPS) требует наличия MD-2, CD14 и липополисахарид-связывающего белка (LBP). LPS связывается с LBP для индуцированной активации микроглии

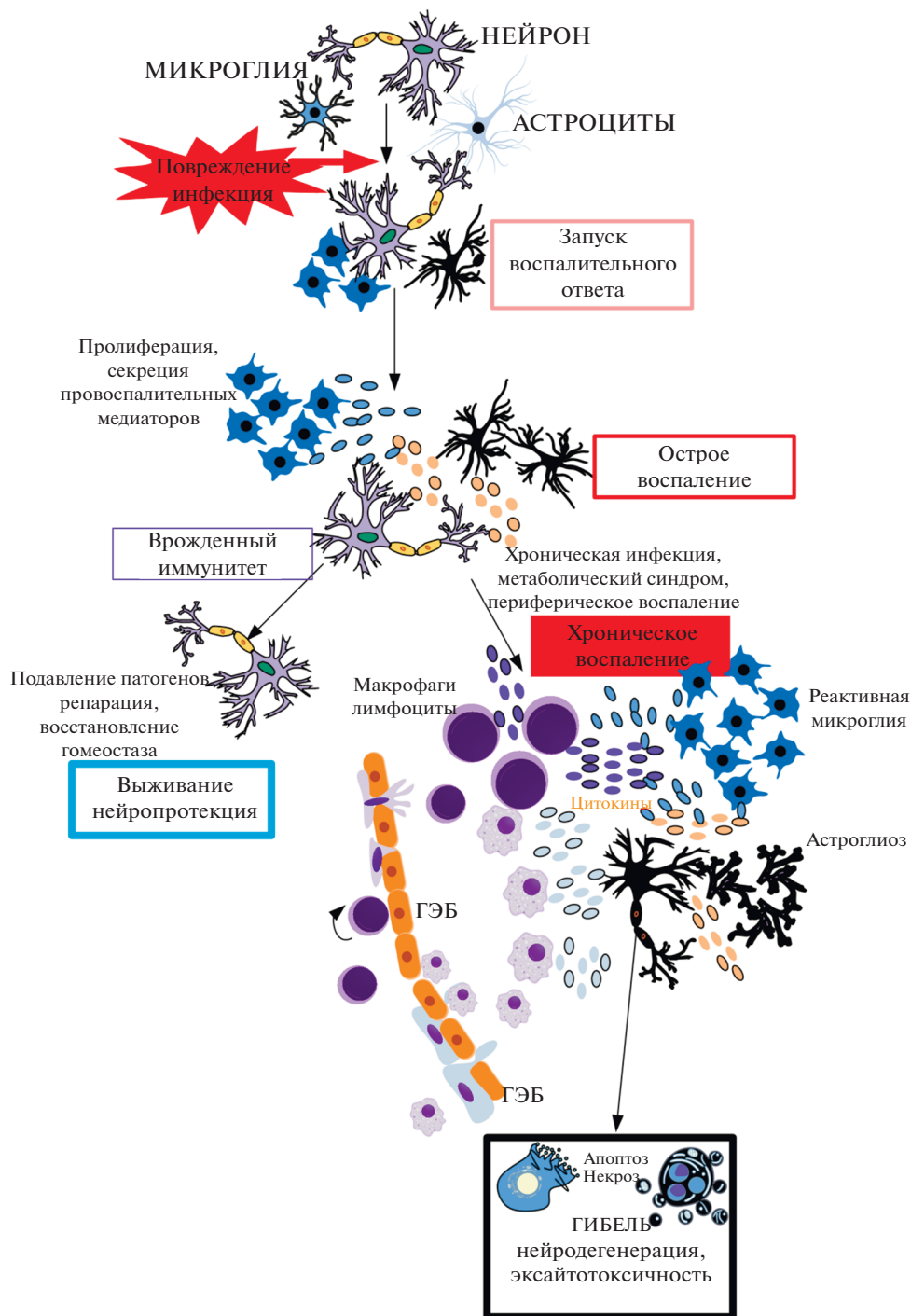


Рис. 4. Две стороны нейровоспаления. Нейровоспалительные реакции могут быть полезными или вредными, в зависимости от их продолжительности и силы активации. Хроническое воспаление обычно ведет к прогрессивной нейродегенерации.

M1. Этот комплекс взаимодействует с TLR4 и ко-рецепторами CD14, MD2 стимулируя трансмембранные сигнальные пути. Передача сигналов через TLR4 разделена на два разных сигнальных пути, MyD88-зависимый, и MyD88-независимые. В

MyD88-зависимых путях, происходит активация NF-κB [76].

Имеются данные о том, что воспалительный процесс может запускаться TLR4-NF-κB-зависимым путем при его активации с помощью HMGB1

[77–79]. HMGB1 это высококонсервативный, негистоновый ДНК-связывающий белок, который признан ключевым медиатором воспаления и нейровоспаления, секретируемый активированными макрофагами и моноцитами. Будучи ядерным белком, HMGB1 может высвобождаться при некрозе клеток, что в условиях повреждения нервной ткани может потенцировать развитие воспаления. Внеклеточный HMGB1 запускает воспалительные реакции посредством активации таких рецепторов как TLR4, TLR2 и RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) в иммунокомпетентных клетках, нейронах и астроцитах [80, 81]. Передача сигналов HMGB1 через эти рецепторы способствует активации NF-κB, через деграцию IκB запускаемую фосфорилированием IκBα, что инициирует экспрессию медиаторов воспаления, таких как TNF-α, IL-1β и IL-6, и выживания клеток [82, 83].

Интересные факты были получены об участии HMGB1 в развитии астроцитарного отека спинного мозга через повышение экспрессии AQP4 после кислородно-глюкозной депривации и реперфузии. Установлено, что этот процесс опосредуется через передачу сигналов HMGB1/TLR4/MυD88/NF-κB и зависит от IL-6 [84].

Участие TNF-α/TNFR/NF-κB сигнального пути в регуляции нейровоспаления

Микроглия играет ведущую роль в инициации процессов как воспаления, так и гибели клеток в нервной системе. Эти функции микроглии связаны с врожденным иммунным ответом и преимущественной передачей сигналов, вызванных цитокином TNF-α. Известно, что степень апоптоза нейронов гиппокампа определяется уровнем TNF-α (мРНК), что указывает на существование критической пороговой концентрации TNF-α необходимой для инициации апоптотических путей [72, 85]. Повышение TNF-α и IL-1β наблюдается в тканях мозга ещё до гибели нейронов. IL-1β и TNF-α играют важную роль в патологическом воспалении и ускорении болезни [72]. Они могут вызывать разрушение ГЭБ, активировать экспрессию молекул адгезии и стимулировать диффузию реактивных веществ, таких как оксид азота (NO) [86]. IL-1β играет решающую роль в прогрессировании хронических нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона, а также острых нейровоспалительных состояний, включая инсульт, ишемию и повреждение головного мозга [87]. Эффекты TNF-α могут определяться областью мозга. В черной субстанции и стриатуме он способствует нейродегенерации, тогда как в гиппокампе – нейротекции [88]. Запуск воспаления обычно определяется по высвобождению провоспалительных цитокинов, таких как TNF-α, IL-1β, а также молекул адгезии.

Апоптотическое действие TNF-α реализует через рецепторы фактора некроза опухоли (TNFR), или рецепторы смерти, – надсемейство тримерных белков, рецепторов цитокинов, которые распознают и связывают цитокины семейства TNF и содержат гомологичную цитоплазматическую последовательность, идентифицирующую внутриклеточный домен гибели (рис. 2). Один из подтипов этих рецепторов – TNFR2 способен инициировать активацию NF-κB через PI3K/Akt путь или через рекрутирование NIK, что обеспечивает канонический и неканонический тип активации NF-κB соответственно [89, 90]. Тип активации NF-κB определяет и особенности димеризации его субъединиц, что, вероятно, может определять и направленность конечного эффекта [91]. Так, Ghosh с соавторами обнаружили, что TNF-α играет защитную роль в гиппокампе мыши, активируя TNFR2-опосредованный сигнальный путь и рекрутируя гетеродимер p65-p52. Этот же гетеродимер участвует в GDNF-опосредованной нейропротекции дофаминергических нейронов черной субстанции у крыс в модели болезни Паркинсона [92]. Эти данные подтверждают ранее полученные результаты о том, что TNF-α обеспечивает нейропротекцию первичных нейронов коры при вызванной глутаматом эксайтотоксичности, активируя NF-κB через TNFR2 [93]. Активация же другого рецептора TNF-α – TNFR1 может вызывать быстрый апоптоз нейронов через включение сигнальных комплексов смерти, таких как AP-1, NF-κB и каспаза-3 [69, 94], и потенцировать прогрессирующее воспаление, индуцируя димеризацию p65/p50 гетеродимера [91].

Другим членом суперсемейства рецепторов TNF-α является рецептор-активатор ядерного транскрипционного фактора NF-κB (RANK), который является центральным активатором NF-κB [95]. Внутриклеточная сигнальная трансдукция RANK опосредуется прямым взаимодействием с факторами TRAF (рис. 2). TRAF6 является критической сигнальной молекулой, запускающей активацию MAPKs, p38 и JNK, а также канонического пути NF-κB в ответ на передачу сигналов через RANK. Недавно было показано, что TRAF3 вовлекается в RANK-опосредованную негативную регуляцию неканонического пути NF-κB [96]. В связи с этим, есть основание считать, что RANK, обладая способностью инициировать оба – канонический и неканонический – пути активации NF-κB, функционально обособлен от некоторых других членов суперсемейства TNFR.

Таким образом, тип рецептора смерти, его локализация и тип формирующегося в результате его активации гетеродимера NF-κB будет, вероятно, определять провоспалительное или протекторное действие цитокина.

Вовлечение NF-κB в ROS-зависимое нейровоспаление

Воспаление вызывает окислительный стресс и повреждение ДНК, что приводит к перепроизводству ROS макрофагами и микроглией. Помимо прямого токсического воздействия ROS на биологические макромолекулы, они могут запускать воспалительную реакцию, стимулируя ряд генов, регулирующих каскады воспалительных сигналов. В ткани мозга есть уникальные источники окислительного стресса, такие как возбуждающие аминокислоты и нейротрансмиттеры. Метаболизм этих аминокислот и нейротрансмиттеров приводит к образованию ROS [97]. Митохондрии являются важным источником утечки ROS из цепи переноса электронов, поскольку они восприимчивы к окислительному повреждению, которое приводит к дисфункции митохондрий и повреждению тканей. NF-κB может быть активирован митохондриальной дисфункцией через окислительный стресс. На линии клеток нейробластомы человека показано, что токсическое воздействие марганца опосредовано активацией NF-κB и приводит к высвобождению провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β и IL-6) и индукции ферментов (iNOS и COX-2) [98]. Генерация ROS, приводящая к NF-κB-вызванной индукции iNOS, усиливает продукцию оксида азота глиальными и эндотелиальными клетками. Избыточное количество NO приводит к воспалительным нейродегенеративным заболеваниям [99]. Сигнальные молекулы NO и ROS в низких концентрациях регулируют пролиферацию клеток. С другой стороны, при высоких концентрациях они являются ключевыми цитотоксическими молекулами. При этом NF-κB, выступая мишенью для ROS и индуктором экспрессии iNOS, выступает звеном патологического процесса нарастания нейровоспаления при окислительном стрессе.

ОСОБЕННОСТИ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ NF-κB В НЕЙРОНАХ

Нейроны, в отличие от других клеток характеризуются наличием конститутивной экспрессии NF-κB p50, в частности, это относится к нейронам гиппокампа и коры головного мозга. Предполагают, что конститутивная экспрессия NF-κB является следствием синаптической активности. Конститутивная активность NF-κB достигается за счет глутаматергических рецепторов, Ca²⁺ каналов L-типа, а также за счет генерации потенциала действия. Активация NF-κB в основном запускается проникновением внеклеточного Ca²⁺ [100–103] (рис. 5). Таким образом, NF-κB действует как преобразователь сигнала, передавая информацию в ядро из активных синапсов, участвуя в поддержании синаптической пластичности. При этом, подавление нейровоспаления в пожилом возрасте

путем ингибирования патологической гиперактивации NF-κB может стимулировать обучение, хотя физиологическое присутствие NF-κB в нейронах необходимо для процесса обучения.

У пациентов с болезнью Альцгеймера активированный NF-κB обнаруживается главным образом в нейронах и глиальных клетках в областях, окружающих бляшки Ab [104]. Активированные клетки генерируют воспалительные цитокины, такие как TNF-α, IL-1β, а также iNOS, что ведет к продукции свободных радикалов, таких как оксид азота [105, 106]. Эти провоспалительные молекулы влияют на прогноз болезни Альцгеймера.

В целом функции NF-κB, которые связаны с нейрональной передачей сигналов, подразумевают, что роль NF-κB в нейронах заметно отличается от других клеток [107–110]. Факторы транскрипции NF-κB являются ключевыми регуляторами воспаления и апоптоза при старении и во время повреждения мозга. Компоненты димеров NF-κB, а также эпигенетические модификации, способствующие ацетилированию гистонов, тонко уравнивают ответ нейронов на поражение мозга (рис. 5). Активация NF-κB/c-Rel стимулирует нейротрофическую активность, способствуя транскрипции ключевых антиапоптотических генов в моделях инсульта. Напротив, есть данные, указывающие на то, что aberrantная активация NF-κB/RelA, демонстрирующая снижение ацетилирования, а скорее сайт-специфическое ацетилирование Lys 310, запускает экспрессию проапоптотических генов [111, 112] (рис. 5).

В ЦНС различные стимулы, такие как молекулярные структуры, связанные с повреждениями и патогенами, синаптическая активность, окислительный стресс, цитокины, хемокины, нейротрансмиттеры, нейротрофические факторы и нейротоксины, а также экспериментальные повреждения и невропатологические расстройства индуцируют активацию NF-κB [8, 11, 16, 113–117]. При этом активация NF-κB в глиальных клетках в основном связана с воспалением [118, 119], а в нейронах NF-κB, напротив — преимущественно участвует в дифференцировке, синаптической пластичности и способствует выживанию клеток [113, 120]. Различие эффектов предположительно связано с рекрутированием различных субъединиц NF-κB (рис. 5). Так повышенная экспрессия субъединицы p50 в гиппокампальных нейронах крыс, при моделировании закрытой травмы головы (СНТ), способствует восстановлению и регенерации мозговой ткани [121]. Исследования показывают, что NF-κB может оказывать положительное или отрицательное влияние в зависимости от типа клеток и характера повреждения [7]. Например, травматическое повреждение мозга (ТВИ), эксайтотоксичность и ишемия характеризуются активацией NF-κB [15, 122, 123]. Однако точная роль

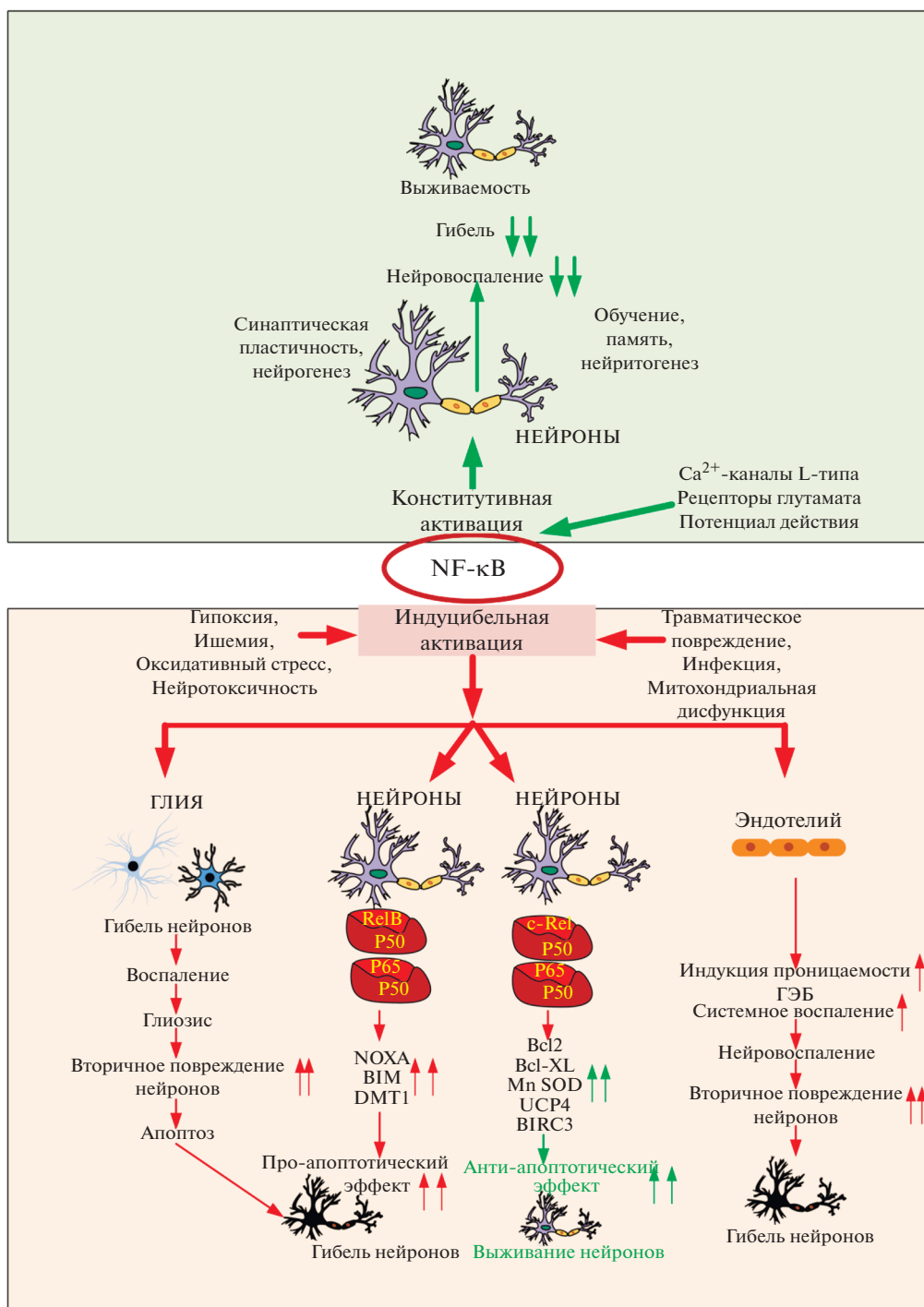


Рис. 5. Схема последствий конститутивной и индуцибельной активации NF-κB в нервной ткани. BIM, NOXA – проапоптотические белки; Bcl-2, Bcl-XL – антиапоптотические белки; DMT1, переносчик двухвалентных металлов 1; UCP4, митохондриальные разобщающие белки; BIRC3 – белок 3, содержащий бакуловирусный повтор IAP; и MnSOD, марганцевая супероксиддисмутаза. Двойными стрелками обозначено повышение/снижение регулируемых параметров.

этого фактора транскрипции в поврежденных нейронах до конца не изучена. Известно, что супрессия NF-κB в нейронах усиливает острую посттравматическую смертность и ухудшает неврологический исход выживших в различные ин-

тервалы посттравматического периода, в том числе усиливая реактивный астроглиоз и апоптоз, и способствует усилению неврологического и моторного дефицита после черепно-мозговой травмы (ЧМТ) [20].

Эти результаты свидетельствуют о том, что базальная активность NF-κB в нейронах необходима для защиты этих клеток от травматического повреждения (рис. 5). Интересно, что подобные протекторные эффекты NF-κB возможны только в определенный момент времени после ЧМТ. Возможно, эндогенная активация NF-κB защищает нейроны в условиях стресса, вызванного повреждением, путем подавления опосредованного p53 апоптоза через внутренний митохондриальный путь [124]. Кроме того, защитная роль NF-κB в нейронах включает антиапоптотические эффекты, опосредованные индукцией эндогенного ингибитора каспазы 8 или путем запуска экспрессии антиоксидантных генов, таких как марганцевая супероксиддисмутаза или кальций-связывающий белок кальбиндин D28k [125–127]. При этом ингибирование NF-κB в микроглии и астроцитах наоборот способствовало благоприятному исходу после травм ЦНС [128–130].

В других работах, было показано, что противоположность эффектов NF-κB может быть опосредована двухфазным характером активации NF-κB в нейронах. Повышение уровней p65 и c-Rel в разные периоды времени позволяет предположить, что в пределах одного нейрона NF-κB может участвовать в различных патофизиологических процессах. Известно, что NF-κB способствует повреждению нейронов, индуцируя провоспалительные цитокины, но, в то же время способствует выживанию клеток при гипоксии-реперфузии посредством усиления экспрессии антиапоптотических медиаторов, таких как Bcl-2 и Bcl-XL [131] (рис. 5).

Это указывает на двойную роль NF-κB в регуляции выживания нейронов при повреждении головного мозга.

Травматическое повреждение нейронов в модели “царапины” *in vitro* вызывало посттравматическую двухфазную активацию NF-κB, через 1 и через 24 ч. При этом, первичное возрастание активации NF-κB способствовало гибели нейронов, тогда как второй пик активации фактора не влиял на данный показатель [132]. Двухфазная активация NF-κB описана Nijboer с соавторами [133] в модели ишемического повреждения головного мозга у новорожденных крысят, где активация фактора во время раннего постишемического периода (0–3 ч) проявляла негативное влияние, а в поздний период (до 24 ч – нейропротекторное). Pizzi и соавторы [134] при анализе выживаемости нейронов при токсическом действии глутамата и протекторном действии IL-1β продемонстрировали противоположные эффекты разных представителей семейства NF-κB. Субъединицы p65 опосредуют гибель клеток, вызванную глутаматом, а c-Rel вовлечены в протекторное действие IL-1β в нейронах мозжечка крысы и на гиппокампальных переживающих срезах мыши [134].

Эксперименты на первичных культурах нейронов при моделировании травмы *in vitro* также демонстрируют корреляцию выживаемости клеток с отсроченной активацией субъединицы c-Rel, в отличие от p65 [132]. Таким образом, анти- и проапоптотических эффекты NF-κB могут определяться типом субъединиц фактора, вовлекаемых в клеточную сигнализацию при повреждении, и временным интервалом посттравматической активации фактора.

Роль PAR-зависимой регуляции активности NF-κB в нейровоспалении

Механизмы повреждения мозга, вызванные геморрагией, а также нарушение проницаемости ГЭБ, при воспалении, несомненно, затрагивают вопрос сопряжения системы гемостаза и процессов воспаления. В этой связи особый интерес представляют данные о вовлечении специфических рецепторов, активируемых протеазами (PAR) в регуляцию активности транскрипционного фактора NF-κB. Тромбин – ключевая протеаза гемостаза является высокоспецифичным агонистом PAR1 (одного из подтипов PAR) и мощным модулятором эндотелиальной функции. Эта PAR1-зависимая функция тромбина реализуется, посредством стимуляции NF-κB, который индуцирует экспрессию адгезивных молекул ICAM-1 и VCAM-1 эндотелием. Известно, что передача сигналов PAR-1/NF-κB зависит от активации PKC. Было показано, что сигнальный комплекс белков, содержащих каркасный белок (CARMA3), линкерный белок (Bcl10) и эффекторный белок (MALT1) связывают активацию PAR-1 со стимуляцией IκB киназного комплекса. IκB киназа в свою очередь фосфорилирует IκB, что приводит к его деградации и высвобождению активного NF-κB [135]. Все три белка, CARMA3, Bcl10 и MALT1 необходимы для эффективной стимуляции тромбином канонический путь NF-κB в эндотелиальных клетках. Delecta с соавторами показали, что запуск NF-κB пути тромбином включает несколько ключевых участников: PKC (фосфорилирует CARMA3), PI3K (рекрутирует PDK1 через фосфорилирование), CBM сигналосома (активирует IKKβ) и Akt (фосфорилирует субъединицу p65, увеличивая ее транскрипционную активность) [135]. Активация фактора транскрипции NF-κB представляет собой один из ключевых механизмов, ответственных за индуцированную тромбином эндотелиальную дисфункцию, которая на уровне мозга проявляется в нарушении ГЭБ и инфильтрации мозговой ткани макрофагами, потенцируя нейровоспаление (рис. 5).

Также необходимо отметить, что увеличение внутриклеточной концентрации кальция, вызываемое активацией PAR, может влиять на ряд внутриклеточных факторов как в ядре, так и в ци-

топлазме (транскрипционные факторы – NF-κB, AP-1 и др.) и запускать или тормозить экспрессию различных генов, в том числе тех белков (Bax/Bad семейства Bcl, AIF, MAP-киназ, каспаз), активность которых определяет развитие апоптоза при токсическом действии глутамата. Было показано, что длительное токсическое действие глутамата на культивируемые гиппокампальные и кортикальные нейроны вызывает активацию NF-κB и транслокацию субъединицы p65 в ядро [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейровоспаление это сложный комплексный ответ нервной ткани на травму, инфекцию, эксайтотоксичность и другие повреждающие факторы. Исход этого процесса определяется совместной работой разных типов клеток: нейронов, микроглии, астроцитов, эндотелиоцитов, макрофагов и перицитов. Принимая хроническую форму, нейровоспаление ведет к нейродегенерации, что позволяет рассматривать его не только как патологический фактор при травме и инсульте, но и как прогностический фактор при нейродегенеративных заболеваниях. В связи с этим, изучение механизмов нейровоспаления с целью выявления терапевтических мишеней для эффективной коррекции данного процесса является актуальным. В качестве такой мишени может выступать транскрипционный ядерный фактор NF-κB, который экспрессируется во всех клетках-участниках нейровоспаления. Многочисленные данные экспериментальных исследований свидетельствуют, что эффекты опосредованные активацией NF-κB определяются как уровнем его базальной экспрессии, так и типом клетки, типом формирующегося димера, временным интервалом активации в посттравматический период (рис. 5). Более того, тонкий контроль активности NF-κB обеспечивается многочисленными модулирующими влияниями со стороны других транскрипционных факторов и сигнальных каскадов. Таким образом, баланс и переключение с провоспалительной на протекторную функцию NF-κB регулируются сложной многокомпонентной системой связей с учетом локально-временных параметров. При всей привлекательности NF-κB в качестве терапевтической мишени, необходимо дальнейшее исследование механизмов его действия с использованием избирательной активации/ингибирования отдельных субъединиц фактора, дальнейшего изучения его клеточной специфичности и приуроченности его активации к определенным повреждающим факторам.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00529.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hayden M.S., Ghosh S. // *Genes. Dev.* 2004. V. 18. P. 2195–2224.
2. Lawrence T., Fong C. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010. V. 42. P. 519–523.
3. Ghosh S. // *Handbook of Transcription Factor NF-κB / Boca Raton: CRC Press by Taylor & Francis Group, 2006.*
4. Gao Z., Hwang D., Bataille F., Lefevre M., York D., Quon M.J., Ye J. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 48115–48121.
5. Sen R., Baltimore D. // *Cell.* 1986. V. 47. P. 921–928.
6. Beg A.A., Sha W.C., Bronson R.T., Ghosh S., Baltimore D. // *Nature.* 1995. V. 376. P. 167–170.
7. Mattson M.P., Camandola S. // *J. Clin. Invest.* 2001. V. 107. P. 247–254.
8. Hayden M.S., Ghosh S. // *Genes Dev.* 2012. V. 26. P. 203–234.
9. Kaltschmidt B., Widera D., Kaltschmidt C. // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* 2005. V. 1745. P. 287–299.
10. Ledoux A.C., Perkins N.D. // *Biochem. Soc. Trans.* 2014. V. 42. P. 76–81.
11. Mattson M.P. // *Neurochem. Res.* 2005. V. 30. P. 883–893.
12. Gorbacheva L., Strukova S., Pinelis V., Ishiwata S., Stricker R., Reiser G. // *Neurochem. Int.* 2013. V. 63. P. 101–111.
13. Gorbacheva L., Pinelis V., Ishiwata S., Strukova S., Reiser G. // *Neuroscience.* 2010. V. 165. P. 1138–1146.
14. Fridmacher V., Kaltschmidt B., Goudeau B., Ndiaye D., Rossi F.M., Pfeiffer J., Kaltschmidt C., Israël A., Mémet S. // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. P. 9403–9408.
15. Herrmann O., Baumann B., De Lorenzi R., Muhammad S., Zhang W., Kleesiek J., Malfetheriner M., Köhrmann M., Potrovita I., Maegle I., Beyer C., Burke J.R., Hasan M.T., Bujard H., Wirth T., Pasparakis M., Schwaninger M. // *Nat. Med.* 2005. V. 11. P. 1322–1329.
16. Kaltschmidt B., Kaltschmidt C. // *Front. Mol. Neurosci.* 2015. V. 8. P. 1–11.
17. Duckworth E.A.M., Butler T., Collier L., Collier S., Pennypacker K.R. // *Brain Res.* 2006. V. 1088. P. 167–175.
18. Widera D., Klenke C., Nair D., Heidbreder M., Malkusch S., Sibarita J.-B., Choquet D., Kaltschmidt B., Heilemann M., Kaltschmidt C. // *Neurophotonics.* 2016. V. 3. P. 041804.
19. Okun E., Griffioen K.J., Lathia J.D., Tang S.C., Mattson M.P., Arumugam T.V. // *Brain Research Reviews.* 2009. V. 59. P. 278–292.
20. Mettang M., Reichel S.N., Latke M., Palmer A., Abaei A., Rasche V., Huber-Lang M., Baumann B., Wirth T. // *FASEB J.* 2018. V. 32. P. 1916–1932.

21. *Lian H., Shim D.J., Gaddam S.S., Rodriguez-Rivera J., Bitner B.R., Pautler R.G., Robertson C.S., Zheng H.* // *Mol. Neurodegener.* 2012. V. 7. P. 1–11.
22. *Dresselhaus E.C., Meffert M.K.* // *Frontiers in Immunology.* 2019. V. 10 P. 1043.
23. *Baldwin A.S.* // *Annu. Rev. Immunol.* 1996. V. 14. P. 649–681.
24. *Ghosh S., May M.J., Kopp E.B.* // *Annu. Rev. Immunol.* 1998. V. 16. P. 225–260.
25. *Heissmeyer V., Krappmann D., Wulczyn F.G., Scheide-reit C.* // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 4766–4778.
26. *Hayakawa M., Miyashita H., Sakamoto I., Kitagawa M., Tanaka H., Yasuda H., Karin M., Kikugawa K.* // *EMBO J.* 2003. V. 22. P. 3356–3366.
27. *Ray P., Zhang D.H., Elias J.A., Ray A.* // *J. Biol. Chem.* 1995. V. 270. P. 10680–10685.
28. *Chen L.W., Egan L., Li Z.W., Greten F.R., Kagnoff M.F., Karin M.* // *Nat. Med.* 2003. V. 9. P. 575–581.
29. *D'Acquisto F., May M.J., Ghosh S.* // *Mol. Interv.* 2002. V. 2. P. 22–35.
30. *Guttridge D.C., Albanese C., Reuther J.Y., Pestell R.G., Baldwin A.S.* // *Mol. Cell. Biol.* 1999. V. 19. P. 5785–5799.
31. *Solan N.J., Miyoshi H., Carmona E.M., Bren G.D., Paya C.V.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 1405–1418.
32. *Baeuerle P.A., Henkel T.* // *Annu. Rev. Immunol.* 1994. V. 12. P. 141–179.
33. *Chen Z.J.* // *Nature Cell Biology.* 2005. V. 7. P. 758–765.
34. *O'Dea E., Hoffmann A.* // *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* 2009. V. 1. P. 107–115.
35. *Gyrd-Hansen M., Meier P.* // *Nat. Rev. Cancer* 2010. V. 10. P. 561–574.
36. *Oeckinghaus A., Hayden M.S., Ghosh S.* // *Nat. Immunol.* 2011. V. 12. P. 695–708.
37. *Liu X., He F., Pang R., Zhao D., Qiu W., Shan K., Zhang J., Lu Y., Li Y., Wang Y.* // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. P. 28971–28986.
38. *Wajant H., Scheurich P.* // *FEBS J.* 2011. V. 278. P. 862–876.
39. *Jha P., Das H.* // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. P. 2383.
40. *Nayak L., Goduni L., Takami Y., Sharma N., Kapil P., Jain M.K., Mahabeshwar G.H.* // *Am. J. Pathol.* 2013. V. 182. P. 1696–1704.
41. *Perkins N.D., Schmid R.M., Duckett C.S., Leung K., Rice N.R., Nabel G.J.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 1529–1533.
42. *Perkins N.D.* // *International J. Biochemistry and Cell Biology.* 1997. V. 29. P. 1433–1448.
43. *Beg A.A., Baldwin A.S.* // *Oncogene.* 1994. V. 9. P. 1487–1492.
44. *Yeh J.X., Park E., Schultz K.L.W., Griffin D.E.* // *J. Virol.* 2019. V. 93. P. 1–82.
45. *Колпакова А.Ф., Шарунов Р.Н., Колпаков Ф.А.* // *Сибирское медицинское обозрение* 2009. Т. 57.
46. *Skaug B., Jiang X., Chen Z.J.* // *Annu. Rev. Biochem.* 2009. V. 78. P. 769–796.
47. *Huang W.-C., Hung M.-C.* // *J. Biomed. Sci.* 2013. V. 20. P. 1–13.
48. *Diamant G., Dikstein R.* // *Biochimica et Biophysica Acta – Gene Regulatory Mechanisms.* 2013. V. 1829. P. 937–945.
49. *Sizemore N., Lerner N., Dombrowski N., Sakurai H., Stark G.R.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 3863–3869.
50. *Haegeman G.* // *Eur. Respir. Journal, Suppl.* 2003. V. 22. P. 16s–19s.
51. *Guha M., Mackman N.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 32124–32132.
52. *Poletto A.C., Furuya D.T., David-Silva A., Ebersbach-Silva P., Corrêa-Giannella M.L., Passarelli M., Machado U.F.* // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015. V. 401. P. 65–72.
53. *Carta S., Semino C., Sitia R., Rubartelli A.* // *Front. Immunol.* 2017. V. 8. P. 345.
54. *Cai D., Yuan M., Frantz D.F., Melendez P.A., Hansen L., Lee J., Shoelson S.E.* // *Nat. Med.* 2005. V. 11. P. 183–190.
55. *Patel H., McIntire J., Ryan S., Dunah A., Loring R.* // *J. Neuroinflammation.* 2017. V. 14. P. 1–15.
56. *Kim J.E., You D.J., Lee C., Ahn C., Seong J.Y., Hwang J.I.* // *Cell. Signal.* 2010. V. 22. P. 1645–1654.
57. *Yu M., Li H., Liu Q., Liu F., Tang L., Li C., Yuan Y., Zhan Y., Xu W., Li W., Chen H., Ge C., Wang J., Yang X.* // *Cell. Signal.* 2011. V. 23. P. 883–892.
58. *Liu G.H., Qu J., Shen X.* // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Cell Res.* 2008. V. 1783. P. 713–727.
59. *Sivandzade F., Prasad S., Bhalerao A., Cucullo L.* // *Redox Biology.* 2019. V. 21 P. 101059.
60. *Jha N.K., Jha S.K., Kar R., Nand P., Swati K., Goswami V.K.* // *J. Neurochem.* 2019. V. 150. P. 113–137.
61. *Nicolas C.S., Amici M., Bortolotto Z.A., Doherty A., Csaba Z., Fafouri A., Dournaud P., Gressens P., Collingridge G.L., Peineau S.* // *Jak-Stat.* 2013. V. 2. P. e22925.
62. *Jha N.C., Mat N.F.C., Gee K.* // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 24404–24411.
63. *Deng Z., Jin J., Wang Z., Wang Y., Gao Q., Zhao J.* // *Int. J. Nanomedicine.* 2017. V. 12. P. 3617–3636.
64. *Boutant M., Cantó C.* // *Mol. Metab.* 2014. V. 3. P. 5–18.
65. *Yeung F., Hoberg J.E., Ramsey C.S., Keller M.D., Jones D.R., Frye R.A., Mayo M.W.* // *EMBO J.* 2004. V. 23. P. 2369–2380.
66. *Chen L.F., Greene W.C.* // *J. Mol. Med.* 2003. V. 81. P. 549–557.
67. *Park S.Y., Kim H.Y., Park H.J., Shin H.K., Hong K.W., Kim C.D.* // *PLoS One.* 2016. V. 11. P. e0168286–e0168286.
68. *Meyer K.C.* // *Inflammation, Advancing Age and Nutrition: Research and Clinical Interventions Elsevier Inc.,* 2013. P. 29–38.
69. *Harry G.J., Kraft A.D.* // *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology.* 2008. V. 4. P. 1265–1277.
70. *Giatti S., Boraso M., Melcangi R.C., Viviani B.* // *J. Molecular Endocrinology.* 2012. V. 49. P. 125–134.
71. *Bradl M., Hohlfeld R.* // *J. Neurology, Neurosurgery and Psychiatry.* 2003. V. 74. P. 1364–1370.
72. *Lyman M., Lloyd D.G., Ji X., Vizcaychipi M.P., Ma D.* // *Neuroscience Research.* 2014. V. 79. P. 1–12.

73. *Shastri A., Bonifati D.M., Kishore U.* // Mediators of Inflammation. 2013. V. 2013.
74. *Su F., Bai F., Zhou H., Zhang Z.* // Brain, Behavior, and Immunity. 2016. V. 52. P. 187–198.
75. *Han L.P., Li C.J., Sun B., Xie Y., Guan Y., Ma Z.J., Chen L.M.* // J. Diabetes Res. 2016. V. 2016.
76. *Thawkar B.S., Kaur G.* // J. Neuroimmunol. 2019. V. 326. P. 62–74.
77. *Agalave N.M., Larsson M., Abdelmoaty S., Su J., Baharpoor A., Lundbäck P., Palmblad K., Andersson U., Harris H., Svensson C.I.* // Pain. 2014. V. 155. P. 1802–1813.
78. *Chen X., Wu S., Chen C., Xie B., Fang Z., Hu W., Chen J., Fu H., He H.* // J. Neuroinflammation. 2017. V. 14. P. 1–12.
79. *Lv R., Du L., Liu X., Zhou F., Zhang Z., Zhang L.* // Life Sci. 2019. V. 223. P. 158–165.
80. *Fang P., Schachner M., Shen Y.Q.* // Mol. Neurobiol. 2012. V. 45. P. 499–506.
81. *Park J.S., Svetkauskaite D., He Q., Kim J.Y., Strassheim D., Ishizaka A., Abraham E.* // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 7370–7377.
82. *Wang L., Zhang X., Liu L., Yang R., Cui L., Li M.* // Neurosci. Lett. 2010. V. 471. P. 152–156.
83. *Zheng C., Liu C., Wang W., Tang G., Dong L., Zhou J., Zhong Z.* // Am. J. Transl. Res. 2016. V. 8. P. 5016–5024.
84. *Sun L., Li M., Ma X., Feng H., Song J., Lv C., He Y.* // J. Neuroinflammation. 2017. V. 14. P. 231.
85. *Nitsch R., Bechmann I., Deisz R.A., Haas D., Lehmann T.N., Wendling U., Zipp F.* // Lancet. 2000. V. 356. P. 827–828.
86. *Blamire A.M., Anthony D.C., Rajagopalan B., Sibson N.R., Perry V.H., Styles P.* // J. Neurosci. 2000. V. 20. P. 8153–8159.
87. *Swaroop S., Sengupta N., Suryawanshi A.R., Adlakha Y.K., Basu A.* // J. Neuroinflammation. 2016. V. 13. P. 1–19.
88. *Sriram K., Matheson J.M., Benkovic S.A., Miller D.B., Luster M.I., O'Callaghan J.P.* // FASEB J. 2006. V. 20. P. 670–682.
89. *Ghosh N., Mitra S., Sinha P., Chakrabarti N., Bhattacharyya A.* // Neurosci. Res. 2018. V. 137. P. 36–42.
90. *Beyer E.M., MacBeath G.* // Mol. Cell. Proteomics. 2012. V. 11. P. 1–14.
91. *Hayden M.S., Ghosh S.* // Semin. Immunol. 2014. V. 26. P. 253–266.
92. *Cao J.P., Wang H.J., Yu J.K., Liu H.M., Gao D.S.* // Brain Res. Bull. 2008. V. 76. P. 505–511.
93. *Marchetti L., Klein M., Schlett K., Pfizenmaier K., Eisel U.L.M.* // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 32869–32881.
94. *Kaushal V., Schlichter L.C.* // J. Neurosci. 2008. V. 28. P. 2221–2230.
95. *Walsh M.C., Choi Y.* // Front. Immunol. 2014. V. 5. P. 511.
96. *Xiu Y., Xu H., Zhao C., Li J., Morita Y., Yao Z., Xing L., Boyce B.F.* // J. Clin. Invest. 2014. V. 124. P. 297–310.
97. *Naik E., Dixit V.M.* // Journal of Experimental Medicine. 2011. V. 208. P. 417–420.
98. *Bahar E., Kim J.Y., Yoon H.* // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. P. 1989.
99. *Terazawa R., Akimoto N., Kato T., Itoh T., Fujita Y., Hamada N., Deguchi T., Inuma M., Noda M., Nozawa Y., Ito M.* // Pharmacol. Res. 2013. V. 71. P. 34–43.
100. *Ouyang Y., Kantor D., Harris K.M., Schuman E.M., Kennedy M.B.* // J. Neurosci. 1997. V. 17. P. 5416–5427.
101. *Meffert M.K., Chang J.M., Wiltgen B.J., Fanselow M.S., Baltimore D.* // Nat. Neurosci. 2003. V. 6. P. 1072–1078.
102. *Speese S.D., Trotta N., Rodesch C.K., Aravamudan B., Broadie K.* // Curr. Biol. 2003. V. 13. P. 899–910.
103. *Ninan I., Arancio O.* // Neuron. 2004. V. 42. P. 129–141.
104. *Snow W.M., Albensi B.C.* // Frontiers in Molecular Neuroscience. 2016. V. 9. P. 118.
105. *Wang R., Chen S., Liu Y., Diao S., Xue Y., You X., Park E.A., Liao F.F.* // J. Biol. Chem. 2015. V. 290. P. 22532–22542.
106. *Wang W.Y., Tan M.S., Yu J.T., Tan L.* // Annals of Translational Medicine. 2015. V. 3. P. 136.
107. *Camandola S., Mattson M.P.* // Expert Opinion on Therapeutic Targets. 2007. V. 11. P. 123–132.
108. *Khasnavis S., Jana A., Roy A., Mazumder M., Bhushan B., Wood T., Ghosh S., Watson R., Pahan K.* // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. P. 29529–29542.
109. *Listwak S.J., Rathore P., Herkenham M.* // Neuroscience. 2013. V. 250. P. 282–299.
110. *Lanzillotta A., Porrini V., Bellucci A., Benarese M., Branca C., Parrella E., Spano P.F., Pizzi M.* // Front. Neurol. 2015. V. 6.
111. *Meffert M.K., Baltimore D.* // Trends in Neurosciences. 2005. V. 28. P. 37–43.
112. *Kaltschmidt B., Ndiaye D., Korte M., Pothion S., Arbibe L., Prüllage M., Pfeiffer J., Lindecke A., Staiger V., Israël A., Kaltschmidt C., Mémet S.* // Mol. Cell. Biol. 2006. V. 26. P. 2936–2946.
113. *Mémet S.* // Biochem. Pharmacol. 2006. V. 72. P. 1180–1195.
114. *Perkins N.D.* // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. V. 8. P. 49–62.
115. *Engelmann C., Weih F., Haenold R.* // Neural Regen. Res. 2014. V. 9. P. 707–711.
116. *Helmy A., De Simoni M.G., Guilfoyle M.R., Carpenter K.L.H., Hutchinson P.J.* // Prog. Neurobiol. 2011. V. 95. P. 352–372.
117. *Pennypacker K.R., Kassed C.A., Eidizadeh S., O'callaghan J.P.* // Brain injury: prolonged induction of transcription factors. // Acta Neurobiol. Exp. 2000. V. 60.
118. *Latke M., Magnutzki A., Walther P., Wirth T., Baumann B.* // J. Neurosci. 2012. V. 32. P. 11511–11523.
119. *Latke M., Reichel S.N., Magnutzki A., Abaei A., Rasche V., Walther P., Calado D.P., Ferger B., Wirth T., Baumann B.* // Mol. Neurodegener. 2017. V. 12. P. 1–20.
120. *Schmeisser M.J., Baumann B., Johannsen S., Vindedal G.F., Jensen V., Hvalby O.C., Sprengel R., Seither J., Maqbool A., Magnutzki A., Latke M., Oswald F., Boeckers T.M., Wirth T.* // J. Neurosci. 2012. V. 32. P. 5688–5703.

121. *Pennypacker K.R., Kassed C.A., Eidizadeh S., Saporta S., Sanberg P.R., Willing A.E.* // *Exp. Neurol.* 2001. V. 172. P. 307–319.
122. *Nonaka M., Chen X.H., Pierce J.E.S., Leoni M.J., McIntosh T.K., Wolf J.A., Smith D.H.* // *J. Neurotrauma.* 1999. V. 16. P. 1023–1034.
123. *Acarin L., González B., Castellano B.* // *J. Neuro-pathol. Exp. Neurol.* 2000. 59. P. 151–163.
124. *Wang D.B., Kinoshita C., Kinoshita Y., Morrison R.S.* // *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis.* 2014. 1842. P. 1186–1197.
125. *Mattson M.P., Goodman Y., Luo H., Fu W., Furukawa K.* // *J. Neurosci. Res.* 1997. V. 49. P. 681–697.
126. *Qin Z.H., Tao L.Y., Chen X.* // *Acta Pharmacol. Sin.* 2007. V. 28. P. 1859–1872.
127. *Yang L., Tao L.Y., Chen X.P.* // *Neurosci. Bull.* 2007. V. 23. P. 307–313.
128. *Brambilla R., Bracchi-Ricard V., Hu W.H., Frydel B., Bramwell A., Karmally S., Green E.J., Bethea J.R.* // *J. Exp. Med.* 2005. V. 202. P. 145–156.
129. *Jayakumar A.R., Tong X.Y., Ruiz-Cordero R., Bregy A., Bethea J.R., Bramlett H.M., Norenberg M.D.* // *J. Neurotrauma* 2014. V. 31. P. 1249–1257.
130. *Lagraoui M., Sukumar G., Latoche J.R., Maynard S.K., Dalgard C.L., Schaefer B.C.* // *Brain. Behav. Immun.* 2017. V. 61. P. 96–109.
131. *Tamatani M., Mitsuda N., Matsuzaki H., Okado H., Miyake S.I., Vitek M.P., Yamaguchi A., Tohyama M.* // *J. Neurochem.* 2000. V. 75. P. 683–693.
132. *Zhang H., Zhang D., Li H., Yan H., Zhang Z., Zhou C., Chen Q., Ye Z., Hang C.* // *Int. J. Mol. Med.* 2018. V. 41. P. 3203–3210.
133. *Nijboer C.H., Heijnen C.J., Groenendaal F., May M.J., Van Bel F., Kavelaars A.* // *Stroke* 2008. V. 39. P. 2578–2586.
134. *Pizzi M., Goffi F., Boroni F., Benarese M., Perkins S.E., Liouand H.C., Spano P.* // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 20717–20723.
135. *Delekta P.C., Apel I.J., Gu S., Siu K., Hattori Y., McAlister-Lucas L.M., Lucas P.C.* // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. P. 41432–41442.

The Role of NF- κ B in Neuroinflammation

I. I. Babkina^{a, b}, S. P. Sergeeva^c, and L. R. Gorbacheva^{a, b}

^a*Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russia*

^b*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^c*Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia*

The nuclear transcription factor NF- κ B consists of a family of transcription factors that play a leading role in the pathogenesis of many chronic inflammatory processes and in the regulation of immune responses. At the end of the last century, NF- κ B was mainly considered as a mediator of apoptosis in the immune cells. Subsequent studies have demonstrated its involvement in the development of the central nervous system, plasticity, neuronal differentiation, neurodegeneration, and in brain injuries. However, its role in the regulation of neuroinflammation and in the survival of mature CNS neurons was shown to be controversial. This review summarizes the literature data on the involvement of NF- κ B in the formation of the response of different types of brain cells to the action of the proinflammatory factors. Different subunits of the NF- κ B family form dimers, which are involved in the regulation of gene expression depending on the type of stimulus. Interestingly, NF- κ B is involved in the pro-inflammatory activation of microglia and astrocytes, while in neurons its protective or degenerative effects it depend not only on the type of stimulus, but also on the time of the delayed cell response. The stimulus-dependent nature of NF- κ B activation is determined by a wide range of receptors, which trigger a number of cell signaling cascades that terminate in the activation of the transcription factor. Tumor necrosis factor receptors (TNFR) or death receptors, toll-like receptors (TLR), protease-activated receptors (PAR) are just a part of membrane receptors capable of initiating intracellular cascades leading to the activation of NF- κ B. An important fact is the possibility of the modulation of the NF- κ B activity and its effects by the other transcription factors. STAT1, STAT3, Sirt1 – these are the molecules that, according to the recent studies, are able to change the nature of NF- κ B-mediated cellular responses. Thus, NF- κ B is a transcription factor, one of the key factors that determines the outcome of negative influences on the nervous system, and that is the reason for the certain interest for it as a pharmacological target during the treatment of neurodegenerative processes associated with inflammation.

Keywords: NF- κ B, microglia, neurons, neuroinflammation, toll-like receptors (TLR), tumor necrosis factor receptors (TNFR), reactive oxygen species (ROS)

УДК 577

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА: СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

© 2021 г. А. А. Алымов¹ *, И. Г. Капица¹, Т. А. Воронина¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 24.12.2020 г.

После доработки 25.12.2020 г.

Принята к публикации 27.12.2020 г.

Наличие значительной и постоянно растущей мировой распространенности расстройств аутистического спектра (РАС) вкупе с продолжающимся поиском оптимальных средств и методов лечения вызывают повышенный интерес к данному заболеванию. В современной медицинской литературе присутствует обильное количество публикаций о нарушениях в функционировании и взаимодействии нейромедиаторных систем при РАС и методах их фармакологической коррекции. Установлено, что в патогенез РАС могут быть вовлечены серотонинергическая, глутаматергическая, ГАМК-ергическая, дофаминергическая, холинергическая, опиатная системы мозга, также вклад могут вносить нарушения метаболизма окситоцина, аргинин-вазопрессина, мелатонина. В настоящем обзоре литературы представлен анализ основных изменений указанных систем при РАС, способов лекарственного воздействия на них и направлений дальнейшего поиска актуальных патогенетических мишеней и препаратов.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, аутизм, РАС, лечение РАС, патогенез РАС

DOI: 10.31857/S1027813321020035

ВВЕДЕНИЕ

Расстройства аутистического спектра (РАС) – это нарушения развития нервной системы, основными чертами которого являются постоянные трудности в социальном взаимодействии и общении, а также наличие стереотипного (стойкого и повторяющегося) поведения, сопротивления изменениям и ограниченность интересов [1].

Распространенность РАС среди детей, согласно статистике, в течение последних десятилетий постоянно растет [1] и по разным данным составляет 1 случай на 37–150 человек [1–3].

Вариативность клинических форм РАС различается от практически бессимптомного течения до тяжелой патологии, сопровождающейся умственной отсталостью и полной социальной дезадаптацией [3].

Почти три четверти детей с РАС также страдают сопутствующим соматическим, психиатрическим или неврологическим расстройством, которое приводит к дополнительным физическим и/или

умственным нарушениям. Существует более 16 различных состояний или расстройств, которые наиболее часто связаны с РАС: синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), тревожность, биполярное расстройство, желудочно-кишечные расстройства, эпилепсия, синдром хрупкой X-хромосомы, расстройство гендерной идентичности, умственная отсталость, невровоспалительные и иммунные нарушения, обсессивно-компульсивное расстройство, шизофрения, сенсорные проблемы, нарушения сна, туберозный склероз, синдром Туретта и тиковые расстройства [1, 4, 5].

Однозначные взгляды на этиологию заболевания на текущий момент не сформированы, однако вклад в его патогенез могут вносить генетические и аутоиммунные факторы, окислительный стресс, дефекты развития нервной системы на ранних этапах онтогенеза, нарушения синаптогенеза, нарушения в функционировании и взаимодействии нейромедиаторных систем, факторы внешней среды [1, 3, 6, 7].

Согласно современной нейробиологической гипотезе РАС, развитие заболевания обусловлено, прежде всего, нарушениями нейротрансмиттерных систем, в том числе функциональными, сов-

* Адресат для корреспонденции: 125315 Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8, e-mail: alymovaleksandar@yandex.ru.

падающими с критическими периодами развития ЦНС, и преимущественно связано с серотонинергической, глутаматергической, ГАМК-ергической, дофаминергической, холинергической и опиатной системами мозга, а также с метаболизмом окситоцина, аргинин-вазопрессина, мелатонина. Основой лечебной программы для терапии РАС являются средства, используемые для нейрохимической коррекции симптомов заболевания.

В соответствии с Клиническими рекомендациями Российской Федерации по РАС [3] для лечения предлагается широкий список антипсихотических препаратов, куда входят седативные антипсихотики (левомепромазин, хлорпромазин, хлорпротиксен, алимемазин, перициазин), инцизивные антипсихотики (галоперидол, трифлуоперазин) и атипичные антипсихотики (сульпирид, клозапин, рисперидон, палиперидон, арипипразол). Также в рекомендациях описаны случаи применения антидепрессантов (амитриптилин, сертралин, флувоксамин), ноотропов (гопантеновая кислота, левокарнитин), вальпроевой кислоты.

Для лечения раздражительности и девиантного поведения у детей с РАС в возрасте 5–16 лет и 6–17 лет в США Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) были утверждены антипсихотики рисперидон и арипипразол. Подтверждено, что оба препарата превосходят плацебо в снижении симптомов раздражительности (тревожность, вспышки гнева и аутодеструктивное поведение), стереотипии и гиперактивности [8]. С целью коррекции нарушений сна у детей с РАС в 2020 г. Американская Академия Педиатрии рекомендовала прием мелатонина [1]. Другие препараты используются off-label для лечения поведенческих симптомов, таких как тревожность и гиперактивность, сопутствующих психических состояний [8].

НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ РАС. УЧАСТИЕ СЕРТОНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Серотонин (5-НТ) вовлечен в такие функции мозга, как эмоциональное поведение, память, способность к обучению, играет роль модулятора сна и настроения, а на этапе развития нервной системы участвует в синаптогенезе, модуляции деления, миграции, дифференцировки клеток, пролиферации и пластичности коры [9].

Активация системы 5-НТ встречается у значительного количества пациентов с РАС, с максимумом до 45% случаев от всех испытуемых [10, 11]. При этом 5-НТ в крови накапливается, главным образом, в тромбоцитах, использующих специфический транспортер 5-НТ [12]. В исследованиях на животных моделях РАС повышенный уровень 5-НТ

приводил к снижению социальной мотивации у потомства регистрируемой по ультразвуковой вокализации при разлуке с матерью [11, 13]. Оценка методом позитронно-эмиссионной томографии уровня 5-НТ, как в целом мозге, так и в отдельных его областях, показала, что для здоровых детей характерны возрастные изменения интенсивности синтеза 5-НТ: в возрасте от двух до пяти лет наблюдается повышение синтеза 5-НТ с последующим снижением в период полового созревания, тогда как у больных РАС такой динамики не выявляется или изначально низкий уровень 5-НТ с возрастом увеличивается [14, 15].

В ряде исследований установлено, что уровни переносчика 5-НТ (SERT или 5-НТТ) и самого 5-НТ были выше как при моделировании РАС на животных, так и у детей, страдающих аутизмом, в то же время имеются посмертные доказательства снижения при РАС связывания 5-НТ с рецепторами 5-НТ(2A) и 5-НТ(1A) в мозге [16].

Свидетельством участия переносчика 5-НТ в развитии симптомов РАС является повышение риска возникновения задержки развития, сопровождающейся специфическим аутичным фенотипом, с полиморфизмом гена переносчика 5-НТ SLC6A4, при замене Gly56 на Ala56 [17]. При этом также фиксируется более высокий клиренс 5-НТ в гиппокампе и гиперсеротонемия, что сопровождается гиперчувствительностью рецепторов 5-НТ(1A) и 5-НТ(2A), появлением нарушений в социальном и стереотипном поведении [17].

Применение у детей с РАС препаратов с серотонинергическим механизмом действия показало противоречивые результаты [18], хотя у взрослых пациентов эффективность терапии чаще подтверждалась, в частности, на снижение стереотипного поведения [19]. Флуоксетин, селективный ингибитор обратного захвата 5-НТ, уменьшал стереотипность поведения у детей с РАС, измеряемого по детской обсессивно-компульсивной шкале Йелла–Брауна (CY-BOCS), улучшал социальное поведение, при этом агрессия, речевые ошибки (повторное употребление фраз) были менее выраженными, хотя в других исследованиях отмечалась его плохая переносимость и ограниченная эффективность [20].

Циталопрам был не эффективен в снижении повторяющихся паттернов поведения или улучшении общего функционального состояния у детей с РАС. При его применении часто наблюдались такие побочные эффекты, как импульсивность, гиперактивность, стереотипия и бессонница [20].

Кломипрамин, неселективный ингибитор обратного захвата 5-НТ, оказался эффективным в отношении таких симптомов как стереотипное поведение, гневливость, ритуальное поведение, гиперактивность, однако развивались побочные эффекты — изменения ЭКГ, тахикардия. Даль-

нейшие исследования показали, что дети младшего возраста хуже переносят этот препарат, частота отмены составляла 72.5%, а положительный эффект у них проявляется значительно слабее [21].

Буспирон, частичный агонист 5-НТ(1А) и антагонист D2 рецепторов, не уменьшал симптоматику РАС у детей раннего возраста по данным оценочных шкал, но значительно снижал стереотипное поведение [22]. Препарат рекомендуется при эмоциональных расстройствах и нарушениях сна.

Приведенные исследования подтверждают участие 5-НТ в патогенезе РАС, однако механизмы нейробиологических изменений остаются неопределенными и требуют дальнейшего изучения.

УЧАСТИЕ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Многочисленные исследования показали, что дисбаланс дофамина (DA) в определенных областях мозга может привести к поведению, характерному для РАС [23]. В частности, у детей с аутизмом продемонстрированы изменения в мезокортиколимбическом дофаминергическом сигнальном пути, такие как снижение высвобождения DA в префронтальной коре и снижение нейронального ответа в прилежащем ядре [24, 25]. У детей с РАС наблюдается нарушение связанных с функционированием дофаминергической системы таких поведенческих навыков как социальное поведение, внимание, восприятие, анализ, планирование, расстановка приоритетов, а также двигательная активность [26, 27].

Предполагается, что при РАС социальный дефицит определяется дисфункцией в мезокортиколимбической области, в то время как дисфункция в нигростриатальной области ведет к стереотипному поведению [28]. Исследования на мышах показали, что лекарственная дисфункция нигростриатального пути вызывала стереотипное поведение [29], а введение антагонистов рецептора D1 уменьшало его [30]. Также агонисты D1 рецепторов вызывали РАС-подобное поведение у нормальных и генетически нокаутированных по рецепторам D2 мышей [30].

Исследования аутопсийного мозга (стриатума) больных с синдромом Туретта, при котором наблюдаются РАС-подобные симптомы, показали аномально повышенное поглощение DA переносчиками [31]. Генетические исследования продемонстрировали связь между РАС и мутациями генов, связанных с дофаминергической системой, таких как транспортер дофамина (DAT) [32], рецепторы DA [33, 34], а также ферменты биосинтеза DA [35]. РАС тесно связаны с мутацией в гене DAT SLC6A3, который кодирует белок, способствующий регуляции уровня DA в головном моз-

ге. Мутации в DAT у мышей вызывали аномальный отток DA и приводили к аутистическим поведенческим фенотипам [36]. Полиморфизм дофаминергических генов может модулировать дисрегуляцию эмоций и симптомы СДВГ у детей с РАС [37].

Типичные нейролептики (антипсихотики первого поколения) наиболее широко применяются для лечения детей и подростков с РАС и имеют значительную доказательную базу. Они проявляют эффективность в отношении симптомов РАС, прежде всего за счет антагонизма к рецепторам D2. Однако при приеме этих препаратов могут возникать нежелательные экстрапирамидные побочные эффекты (тремор, спазмы, ригидность, поздняя дискинезия) и гиперпролактинемия [38, 39], что ограничивает их применение. Экстрапирамидные нарушения возникают в результате антагонистического действия препаратов на нигростриатные рецепторы D2, в то время как гиперпролактинемия связывают с модуляцией тубероинфундибулярных рецепторов D2 [40].

Полагают, что атипичные нейролептики проявляют терапевтическую эффективность при РАС за счет блокады кортикальных рецепторов 5-НТ и лимбических рецепторов DA [41]. При этом при применении атипичных нейролептиков в клинически эффективных диапазонах доз частота случаев экстрапирамидных проявлений и гиперпролактинемии незначительна, что объясняется наличием у них обратимого связывания с рецепторами D2 и быстрой диссоциации, что обеспечивает нормальную нейротрансмиссию DA [39]. Равновесие между серотонин/дофаминовой блокадой способствует улучшению переносимости и повышению профиля безопасности по сравнению с типичными антипсихотиками [42].

Клинические испытания показали эффективность и переносимость рисперидона (антагонист дофаминовых и 5-НТ(2А)-серотониновых рецепторов, подавляет высвобождение глутамата) у детей с РАС [8, 43]: рисперидон значительно уменьшает аутодеструктивное поведение, улучшает общее функционирование, увеличивает безрецидивный период [44]. В большинстве исследований сообщалось о различных побочных эффектах рисперидона, включая гиперпролактинемия, вялость, сонливость, повышение аппетита и увеличение массы тела [39, 45].

Арипипразол также снижает раздражительность, гиперактивность и стереотипию [44], улучшает общее функциональное состояние, достаточно хорошо переносится детьми [46]. Эффекты препарата сохраняются в течение длительного времени [47]. Однако арипипразол снижает уровень пролактина, что, возможно, обусловлено его частичным агонистическим действием на рецептор D2 [46]. Общими побочными эффектами в испытаниях арипипразола были седативный эффект, сонливость,

увеличение массы тела, повышение аппетита, рвота и экстрапирамидные симптомы. [44].

Применение других атипичных антипсихотических препаратов у детей и подростков с РАС не получило широкого распространения вследствие их меньшей эффективности и/или выраженных побочных эффектов. Так, оланзапин улучшал показатели общего функционального состояния, однако вызывал большой прирост массы тела [48]; луразидон был не эффективен в снижении раздражительности, но улучшал показатели, оцениваемые по Шкале общего клинического впечатления (CGI-I), однако часто вызывал рвоту и сонливость [49]; кветиапин почти не снижал раздражительности, его прием сопровождался седацией, набором массы тела и агрессивным поведением [48]; зипразидон снижал раздражительность и вызывал наименьшие набор веса и метаболические нарушения по сравнению с другими атипичными антипсихотическими препаратами [50].

При исследовании типичных антипсихотических средств у детей и подростков с РАС галоперидол, блокатор рецепторов D2, значительно снижал социальную отстраненность и стереотипию при оценке по Шкале оценки детской психопатологии (CPRS) и CGI-I, положительно влиял на обучение [51]. Основными побочными эффектами препарата являются дозозависимая седация и острая дистоническая реакция, частые дискинезии [52]. Высокий риск экстрапирамидных симптомов ограничивает использование галоперидола.

УЧАСТИЕ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Участие в патогенезе РАС глутамата — основного возбуждающего нейромедиатора мозга, показано рядом исследований [53, 54]. Глутамат вовлечен в нейрогенез, синаптогенез, участвует в когнитивных функциях, при его избытке развивается эксайтотоксичность, нарушается миелинизация. Соответственно, изменение концентрации глутамата на этапе развития ЦНС может приводить к нарушениям поведения, функций обучения и памяти. Глутаматные рецепторы сосредоточены в областях мозга, в которых обнаружены нейропатологические изменения при РАС (мозжечок, гиппокамп). Блокада глутаматных рецепторов может облегчать симптоматику РАС, например, анестезия кетаминном оказывает успокаивающее действие, повышает концентрацию внимания у детей, страдающих аутизмом [55]. В 1998 г. на основании сравнительных нейроанатомических и гистологических исследований биоматериалов больных аутизмом и психически здоровых лиц, а также на основании сходства симптоматики, вызываемой антагонистами глутаматных рецепторов, и симптомов аутизма, было выдвинуто предположение, что РАС связаны

с нарушением функции глутаматергической системы [54].

У больных РАС обнаружено достоверное повышение экспрессии генов, кодирующих переносчиков глутамата — белки EAAT-1 и EAAT-2, основной функцией которых является удаление глутамата из синаптической щели [55]. При этом количество и активность EAAT-1 и EAAT-2 контролируется концентрацией внеклеточного глутамата, что свидетельствует о ее повышении при РАС. В пользу участия различных компонентов глутаматергической системы в патогенезе РАС свидетельствуют генетические исследования. Обнаружена высокая корреляция аутизма с полиморфизмом гена SLC25A12, кодирующего митохондриальный аспартат/глутаматный переносчик AGC1, выявлен сцепленный с аутизмом ген глутаматного рецептора 6 (белок GluR6) хромосомы 6q21, а в нарушениях речи вовлечен участок хромосомы 7q21-34, содержащий ген метаболитического глутаматного рецептора 8 (GRM8) [56, 57]. В механизме развития патологии, связанной с ломкой X-хромосомой, также отмечено нарушение функций глутаматных метаболитических рецепторов [58].

Ранняя коррекция дисфункции NMDAR значительно снижает симптоматику РАС у мышей [59, 60]. На модели РАС у грызунов, подвергшихся пренатальному введению вальпроевой кислоты, продемонстрирована селективная сверхэкспрессия субъединиц NR2A и NR2B рецепторов NMDA. Эта сверхэкспрессия вызывает усиление опосредованных NMDA-рецептором синаптических токов, что приводит к усилению постсинаптической пластичности в неокортикальных пирамидных нейронах [61].

Предпринимаются попытки лечения РАС препаратами, действие которых направлено на глутаматергическую систему. Показано, что N-ацетилцистеин, модулятор NMDA с антиоксидантными свойствами, снижает раздражительность у детей с РАС, но не уменьшает выраженность социального дефицита, стереотипного поведения и не улучшает общее функциональное состояние [62]. D-циклосерин, частичный агонист NMDA, также не улучшал социальное функционирование в исследовании у детей с РАС, обучающихся социальным навыкам [63].

Мемантин, антагонист NMDA рецепторов, не улучшал социальное поведение [64]. Известны положительные результаты применения антагониста NMDA-рецепторов амантадина в отношении гиперактивности и нарушений речи, причем большие хорошо переносили этот препарат, хотя снижения раздражительности у детей и подростков с РАС не отмечалось [65]. При этом показано предпочтительное применение rispидона в комбинации с мемантином, рилузолем (антаго-

нист глутамата), N-ацетилцистеином и амантадином для снижения раздражительности по сравнению с монотерапией антипсихотиком [66].

УЧАСТИЕ ГАМК-ЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Дисбаланс между возбуждающей (глутаматергической) и тормозящей (ГАМК-ергической) нейромедиаторными системами является одним из ведущих факторов патогенеза РАС [67, 68]. Снижение контроля со стороны ГАМК-ергических нейронов может приводить к гипервозбуждению чувствительных нейронов [69]: в первую очередь могут повреждаться пирамидальные нейроны [70]. Необходимо отметить, что в период развития нервной системы ГАМК-рецепторы отличаются от таковых у взрослых: в этот период ГАМК представляет собой основной возбуждающий нейротрансмиттер и влияет на пролиферацию, миграцию, созревание синапсов, дифференцировку и гибель клеток [71].

У детей с РАС в плазме крови наблюдается повышение уровня ГАМК и соотношения глутамат/глутамин, в то время как уровень глутамин и соотношение глутамат/ГАМК снижаются [72]. Подобный дисбаланс приводит к таким нарушениям развития нервной системы как задержка развития, умственная отсталость, шизофрения и эпилепсия [73].

У пациентов с идиопатическим РАС магнитно-резонансная спектроскопия (МРС) показала снижение концентрации глутамата в стриатуме [74], а снижение ГАМК было обнаружено при МРС у пациентов разных возрастных групп в двигательной, зрительной, слуховой, соматосенсорной и в перисильвиевой областях левого полушария мозга [75].

Продолжается изучение ассоциации с рисками развития РАС участка хромосомы 15q11–q13 – области возникновения делеций и дупликаций геномной ДНК, которая содержит три гена субъединицы рецептора ГАМК (GABRB3, GABRA5 и GABRG3), которые кодируют субъединицы $\beta 3$, $\alpha 5$ и $\gamma 3$ [76].

Обнаружено у больных с РАС снижение плотности ГАМК-А и ГАМК-В рецепторов в мозжечке [67], экспрессии гена GABRB3 [77], и достоверное снижение численности связывания меченых молекул-лигандов в гиппокампе [78].

В то же время, исследование корреляции генов глутаматергических и ГАМК-ергических систем с симптоматикой у пациентов с СДВГ и аутизмом показало значимую связь между глутаматными генами и выраженностью симптомов гиперактивности и импульсивности, однако ассоциации с симптомами РАС в обеих системах генов обнаружено не было [68].

Арбаклофен, селективный агонист ГАМК-В, показал значительное улучшение общего функционального состояния у детей с РАС [79], но был не эффективен в отношении социальных навыков, коррекции нарушений сна, росте социальных контактов [80], вызывал эмоциональную лабильность, седативный эффект, бессонницу, беспокойство и нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта [79, 80].

Буметанид, модулятор ГАМК, уменьшал симптоматику РАС при измерении по Шкале оценки детского аутизма (CARS), Шкале социальной отзывчивости (SRS) и CGI-I у детей и подростков, но вызывал побочные эффекты: дозозависимую гипокалиемию, учащенное мочеиспускание, обезвоживание, потерю аппетита и астению [81].

Таким образом, монотерапия препаратами, воздействующими на ГАМК- и глутаматергические системы в ряде случаев оказывает умеренный позитивный эффект на течение РАС, но все же не оправдывает возложенных ожиданий. Можно предположить, что этот феномен может быть обусловлен возникновением дисбаланса в данных системах уже на ранних этапах онтогенеза, приводя к структурным изменениям, слабо поддающимся коррекции к моменту начала терапии.

УЧАСТИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Холинергическая система, наряду с другими функциями, участвует в регуляции внимания [82], когнитивной гибкости [83], социального взаимодействия [84]. У больных РАС наблюдается нарушение количества и структуры нейронов в базальном переднемозговом холинергическом ядре [85], а также снижение уровня холина, предшественника нейромедиатора ацетилхолина (ACh) и агониста никотиновых рецепторов ацетилхолина (nAChR) [86], что уменьшает активацию префронтальной коры, снижая внимание и мыслительную деятельность.

Доказательством нарушений холинергической системы при РАС также является значительное снижение экспрессии гена $\alpha 4\beta 2$ подтипа nAChR в теменной и лобной коре, обнаруженное в посмертных образцах головного мозга пациентов с РАС [87], тогда как в мозжечке наблюдаются уменьшение и аномальные формы структурных субъединиц $\alpha 4$ nAChRs, которое может быть связано с потерей клеток Пуркинье и с компенсаторным увеличением аномальных форм $\alpha 7$ подтипа nAChR [88].

На животных моделях РАС продемонстрировано участие nAChR в модулировании социального и стереотипного поведения [89]. У мышей, нокаутированных по субъединицам $\alpha 4$ nAChR, $\beta 2$ nAChR или $\alpha 7$ nAChR, соответственно, наблюда-

лись повышение тревожности, патологический режим сна и стереотипное поведение [90–92].

Доказательства эффективности применения ингибитора холинэстеразы донепезила у детей с РАС носят противоречивый характер: препарат значительно улучшил показатели CARS и показатели экспрессивной и восприимчивой речи [93], однако не влиял на когнитивную и поведенческую деятельность [94].

Совместное применение ингибитора ацетилхолинэстеразы галантамина с рисперидоном у детей с РАС сильнее снижало раздражительность и социальные нарушения, чем монотерапия рисперидоном, при той же частоте побочных эффектов [95].

УЧАСТИЕ МЕЛАТОНИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Дети с РАС часто страдают нарушениями сна, такими как, трудности с засыпанием, бессонница и парасомния [96]. Мелатонин является основным регулятором ритма сна и бодрствования, уменьшает латентность сна, является мощным антиоксидантом, играет роль в развитии и пластичности нервной системы, а также может играть роль в гомеостазе плаценты [97]. Во время беременности мелатонин может проникать через плаценту, обеспечивая фотопериодическую информацию для плода и устанавливая нормальный цикл сна, который необходим для нормального развития нервной системы [98]. Также материнский мелатонин до созревания эпифиза плода защищает от воспаления и повреждения головного мозга [98]. В исследованиях у пациентов с РАС были выявлены пониженные уровни плазменного метаболита мелатонина, мелатонина и сниженная экскреция мелатонинсульфата с мочой [99]. Более того, уровни 6-сульфатоксимелатонина оказались значительно ниже у матерей детей с РАС [100]. У части пациентов с РАС отмечаются специфические аномалии генов (MTNR1A, MTNR1B, GPR50 и ASMT), что может способствовать снижению уровня мелатонина, нарушать его синтез или изменять функцию его рецептора [101].

Мелатонин хорошо переносится и значительно увеличивает общую продолжительность сна, снижает период засыпания и общие нарушения сна у детей с РАС [102, 103]. Также показано, что препарат способен улучшать коммуникативные навыки, снижать ригидность и тревожность у детей с РАС [104]. Появляется все больше доказательств того, что мелатонин может оказывать влияние на другие симптомы, помимо сна, такие как беспокойство, депрессия, боль и желудочно-кишечные расстройства [105].

УЧАСТИЕ ОКСИТОЦИНА И АРГИНИН- ВАЗОПРЕССИНА В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Окситоцин участвует в ряде физиологических процессов, в том числе в родах и лактации, изменяет синаптическую пластичность и модулирует социальные модели поведения, такие как зрительный контакт, социальное признание, агрессивность, социально-сексуальное поведение, которые играют существенную роль в формировании эмоционального и социального “я”. Имеются данные о том, что в плазме больных РАС наблюдается изменение уровней окситоцина и аргинин-вазопрессина, что коррелирует с нарушением у больных межличностных взаимодействий [106], а также установлена связь между степенью метилирования гена окситоцинового рецептора (OXTR) и симптомами РАС [107]. На основании этих данных и ряда других [108] было выдвинуто предположение, что сбой окситоцинергической системы на ранних стадиях развития нервной системы может повлиять на социальное поведение путем изменения синаптической активности и пластичности [108].

Результаты исследований на здоровых людях указывали на потенциал окситоцина в улучшении социального познания и стереотипного поведения [109], но значительного эффекта у детей с РАС окситоцин не оказал [110], отмечены единичные работы по улучшению социального функционирования у детей с РАС при измерении показателей по шкале SRS [111].

УЧАСТИЕ ОПИАТНОЙ СИСТЕМЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАС

Нарушения опиатной системы были зарегистрированы у пациентов с РАС, особенно в отношении аутодеструктивного поведения [112]. Основываясь на предполагаемой роли эндогенных опиоидов, таких как β -эндорфин и энкефалин, в регуляции социального поведения, были оценены эффекты антагониста опиатов налтрексона при РАС: препарат снижал гиперактивность, но не демонстрировал эффективность в улучшении коммуникации и редукции других симптомов РАС [113].

Помимо рассмотренных выше основных лекарственных средств, для лечения РАС делались попытки применения противоэпилептических препаратов, препаратов для лечения СДВГ, омега-3 жирных кислот, витамина D [18]. Эти препараты оказывали эффект при наличии соответствующих коморбидных патологий, однако воздействие на симптоматику РАС не нашло подтверждения [18].

ПОИСК НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ И МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ РАС

Обилие попыток применения препаратов различных функциональных групп для лечения РАС

свидетельствует об отсутствии на текущий момент удовлетворяющего воздействия лекарственных средств на весь симптомокомплекс заболевания. При этом, даже при эффективной фармакотерапии отдельных симптомов, побочные эффекты часто обременительны, особенно в долгосрочной перспективе, поэтому поиск новых препаратов и методов лечения остается актуальным.

С учетом наличия многочисленных нейрохимических изменений при РАС, возникает запрос на поиск субстратов, воздействие на которые позволяло бы компенсировать большую часть нарушений в функционировании и взаимодействии нейротрансмиттерных систем. Таким субстратом может оказаться сигма1-рецептор (Sig-1R) – связанный с мембраной белок-шаперон [114]. В клетках Sig-1R располагается в областях эндоплазматического ретикулума (ЭР), связанных с митохондриями (ММ), через которую осуществляется липидный обмен, обмен митохондриальной ДНК, ток Ca^{2+} , передача сигналов ядру при стрессе [115]. Основная роль данного рецептора – усиление или уменьшение сигнализации, инициируемой при контакте с белками-мишенями [116]. При нарушении гомеостаза Sig-1R оказывает модулирующее действие на D1 и D2 рецепторы, NMDA-рецепторы, мю-опиоидные рецепторы, мускариновые ацетилхолиновые рецепторы, подавляет транскрипцию гена MAO-B [117, 118]. В частности, Sig-1R модулирует передачу сигналов Ca^{2+} через рецептор инозитолтрифосфата (ИФ3) от ЭР к митохондриям, повышая антиоксидантные свойства клетки и снижая окисление свободными радикалами, а на плазматической мембране ингибирует пресинаптические кальциевые каналы, способствуя передаче сигналов между нейронами вегетативных ганглиев [115]. В то же время при РАС наблюдается снижение ИФ3-опосредованного высвобождения Ca^{2+} из ЭР, что, в свою очередь, приводит к снижению активности ГАМК-ергической системы [119]. Применение агонистов Sig-1R вызывает анксиолитический, нейропротективный, кардиопротективный, прокогнитивный, антидепрессивный, антиобсессивный эффекты, уменьшает тики, дискинезии, экстрапирамидные побочные явления [114, 116]. На основании вышеприведенных данных можно предположить наличие у агонистов Sig-1R положительных клинических эффектов на симптомы РАС как при монотерапии, так и при комплексном применении с нейрорепарантами.

Перспективным направлением при лечении РАС может оказаться применение препаратов с мультитаргетным действием, влияющих на патогенетически значимые мишени. К препаратам такого типа относится отечественный препарат афобазол. Афобазол (5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио]-бензимидазола дигидрохлорид) является агонистом Sig-1R и мелатонинергического рецептора МТ1

[120], ингибитором хинонредуктазы-2 (МТ3) [121], обладает свойствами обратимого и селективного ингибитора MAO-A [120], предотвращает стресс-индуцированное падение связывания в бензодиазепиновом участке ГАМК-A рецептора [122].

При совместном применении афобазола с галоперидолом, являющимся антагонистом Sig-1R, на животных было продемонстрировано усиление антипсихотического действия при снижении экстрапирамидных и каталептогенных побочных эффектов [123].

При исследовании эффектов афобазола на расстройства сна неорганической этиологии у пациентов с тревожными расстройствами показано улучшение основных характеристик сна при его приеме перед сном в дозе 20 мг [124].

При изучении воздействия на общее функциональное состояние в популяции здоровых людей афобазол достоверно увеличивал скорость моторных и зрительных реакций, концентрацию и распределение внимания [125]. Позитивный эффект на показатели внимания также был продемонстрирован у пациентов с тревожными расстройствами [126]. Данное действие препарата также можно расценить позитивно при лечении РАС в связи со значительной частотой таких коморбидных состояний, как СДВГ, тревожные расстройства. Показано, что у детей с СДВГ афобазол не только уменьшал тревожность, раздражительность, отвлекаемость, гиперактивность и импульсивность, но и улучшал их когнитивное функционирование, концентрацию внимания, характеристики рабочей памяти [127].

На животных моделях РАС афобазол уменьшал когнитивную ригидность, в том числе улучшал пространственную память и переобучение [128], восстанавливал характерное видовое поведение при предъявлении запаха хищника, снижал проявления тревоги [129], улучшал социальное взаимодействие [130]. Таким образом, рядом клинических и экспериментальных данных продемонстрирована способность афобазола оказывать комплексное позитивное воздействие на ряд аутичноподобных симптомов РАС и коморбидных состояний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

РАС – крайне гетерогенное заболевание с многофакторной этиологией, терапия которого должна носить мультитаргетный патогенетический и/или симптоматический характер. На текущий момент применение у детей и подростков с РАС лекарственных средств, как правило, приводит либо к малозначительным положительным эффектам, как на основные, так и сопутствующие симптомы заболевания, либо сопровождается выраженными побочными действиями, влияющими на приверженность лечению.

С учетом современных знаний о патогенезе РАС, роли сигма1-рецепторов в гомеостазе нервной системы может оказаться перспективной разработка препаратов, действующих в первую очередь комплексно патогенетически, а не симптоматически. На основании имеющихся доклинических и клинических данных применение афобазола при РАС может быть многообещающим.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hyman S.L., Levy S.E., Myers S.M. // *Pediatrics*. 2020. V. 145. № 1. e20193447. <https://doi.org/10.1542/peds.2019-3447>
- Maenner M.J., Shaw K.A., Baio J., Washington A., Patrick M., DiRienzo M., Christensen D.L., Wiggins L.D., Pettygrove S., Andrews J.G. et al. // *MMWR Surveill. Summ.* 2020. V. 69. № 4. P. 1–12. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6904a1>
- Общественная организация “Российское общество психиатров”. Расстройства аутистического спектра в детском возрасте: диагностика, терапия, профилактика, реабилитация. Клинические рекомендации, 2020. 125 с.
- Young S., Hollingdale J., Absoud M., Bolton P., Branney P., Colley W., Craze E., Dave M., Deeley Q., Farrag E. et al. // *BMC Med.* 2020. V. 18. № 1. P. 146. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01585-y4>
- Marotta R., Risoleo M.C., Messina G., Parisi L., Carotenuto M., Vetri L., Roccella M. // *Brain Sci.* 2020. V. 10. № 3. P. 163. <https://doi.org/10.3390/brainsci10030163>
- Guang S., Pang N., Deng X., Yang L., He F., Wu L., Chen C., Yin F., Peng J. // *Front. Cell. Neurosci.* 2018. V. 12. № 470. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00470>
- Arya A., Sindhvani G. // *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2016. V. 7. № 9. P. 3567–3575. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(9\).3567-75](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(9).3567-75)
- Williamson E., Sathe N.A., Andrews J.C., Krishnaswami S., McPheeters M.L., Fonnesebeck C., Sanders K., Weitlauf A., Warren Z. *Medical Therapies for Children With Autism Spectrum Disorder—An Update*. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2017. 713 p.
- Jenkins T.A., Nguyen J.C., Polglaze K.E., Bertrand P.P. // *Nutrients*. 2016. V. 8. № 1. P. 56. <https://doi.org/10.3390/nu8010056>
- Chen R., Davis L.K., Guter S., Wei Q., Jacob S., Potter M.H., Cox N.J., Cook E.H., Sutcliffe J.S., Li B. // *Mol. Autism*. 2017. V. 8. P. 14. <https://doi.org/10.1186/s13229-017-0130-3>
- Ellenbroek B.A., August C., Youn J. // *Front. Neurosci.* 2016. V. 10. P. 424. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00424>
- Aaron E., Montgomery A., Ren X., Guter S., Anderson G., Carneiro A., Jacob S., Mosconi M., Pandey G.N., Cook E. et al. // *J. Autism Dev. Disord.* 2019. V. 49. № 6. P. 2417–2425. <https://doi.org/10.1007/s10803-019-03989-z>
- Nakai N., Nagano M., Saitow F., Watanabe Y., Kawamura Y., Kawamoto A., Tamada K., Mizuma H., Onoe H., Watanabe Y. et al. // *Sci. Adv.* 2017. V. 3. № 6. e1603001. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1603001>
- Chugani D.C., Muzik O., Behen M., Rothermel R., Janisse J.J., Lee J., Chugani H.T. // *Ann. Neurol.* 1999. V. 45. № 3. P. 287–295. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199903\)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199903)45:3<287::aid-ana3>3.0.co;2-9)
- Hwang B.J., Mohamed M.A., Brašić J.R. // *Int. Rev. Psychiatry.* 2017. V. 29. № 6. P. 530–554. <https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1397606>
- Abdulmir H.A., Abdul-Rasheed O.F., Abdulghani E.A. // *Saudi. Med. J.* 2018. V. 39. № 5. P. 487–494. <https://doi.org/10.15537/smj.2018.5.21751>
- Veenstra-VanderWeele J., Muller C.L., Iwamoto H., Sauer J.E., Owens W.A., Shah C.R., Cohen J., Manangatti P., Jessen T., Thompson B.J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 14. P. 5469–5474. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112345109>
- Zhou M.S., Nasir M., Farhat L.C., Kook M., Artukoglu B.B., Bloch M.H. // *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* 2020. V. 60. № 1. P. 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2020.03.007>
- Hollander E., Soorya L., Chaplin W., Anagnostou E., Taylor B.P., Ferretti C.J., Wasserman S., Swanson E., Settipani C. // *Am. J. Psychiatry.* 2012. V. 169. № 3. P. 292–299. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.10050764>
- Yu Y., Chaulagain A., Pedersen S.A., Lydersen S., Leventhal B.L., Szatmari P., Aleksic B., Ozaki N., Skokauskas N. // *BMC Psychiatry.* 2020. V. 20. № 1. P. 121. <https://doi.org/10.1186/s12888-020-2477-9>
- Remington G., Sloman L., Konstantareas M., Parker K., Gow R. // *J. Clin. Psychopharmacol.* 2001. V. 21. № 4. P. 440–444. <https://doi.org/10.1097/00004714-200108000-00012>
- Chugani D.C., Chugani H.T., Wiznitzer M., Parikh S., Evans P.A., Hansen R.L., Nass R., Janisse J.J., Dixon-Thomas P., Behen M. et al. // *J. Pediatr.* 2016. V. 170. P. 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2015.11.033>
- Dichter G.S., Damiano C.A., Allen J.A. // *J. Neurodev. Disord.* 2012. V. 4. № 1. P. 19. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-4-19>
- Ernst M., Zametkin A.J., Matochik J.A., Pascualvaca D., Cohen R.M. // *Lancet.* 1997. V. 350. № 9078. P. 638. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)63326-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)63326-0)
- Chevallier C., Kohls G., Troiani V., Brodtkin E.S., Schultz R.T. // *Trends Cogn. Sci.* 2012. V. 16. № 4.

- P. 231–239.
<https://doi.org/10.1016/j.tics.2012.02.007>
26. *Hellings J.A., Arnold L.E., Han J.C.* // *Expert Opin. Pharmacother.* 2017. V. 18. № 6. P. 581–588.
<https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1308483>
 27. *Seeman P.* // *Clin. Schizophr. Relat. Psychoses.* 2010. V. 4. № 1. P. 56–73.
<https://doi.org/10.3371/CSRP.4.1.5>
 28. *Pavál D.* // *Dev. Neurosci.* 2017. V. 39. № 5. P. 355–60.
<https://doi.org/10.1159/000478725>
 29. *Kim H., Lim C.S., Kaang B.K.* // *Behav. Brain. Funct.* 2016. V. 12. № 1. P. 3.
<https://doi.org/10.1186/s12993-016-0087-y>
 30. *Lee Y., Kim H., Kim J. E., Park J. Y., Choi J., Lee J. E., Lee E. H., Han P. L.* // *Mol. Neurobiol.* 2018. V. 55. № 7. P. 5658–5671.
<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0770-5>
 31. *Minzer K., Lee O., Hong J.J., Singer H.S.* // *J. Neurol. Sci.* 2004. V. 219. № 1–2. P. 55–61.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2003.12.006>
 32. *Herborg F., Andreassen T.F., Berlin F., Loland C.J., Gether U.* // *J. Biol. Chem.* 2018. V. 293. № 19. P. 7250–7262.
<https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.001753>
 33. *Gangi D.N., Messinger D.S., Martin E.R., Cuccaro M.L.* // *Autism Res.* 2016. V. 9. № 11. P. 1142–1150.
<https://doi.org/10.1002/aur.1623>
 34. *Staal W.G., Langen M., van Dijk S., Mensen V.T., Durston S.* // *Br. J. Psychiatry.* 2015. V. 206. № 5. P. 431–432.
<https://doi.org/10.1192/bjp.bp.114.148973>
 35. *Nguyen M., Roth A., Kyzar E.J., Poudel M.K., Wong K., Stewart A.M., Kalueff A.V.* // *Neurochem. Int.* 2014. V. 66. P. 15–26.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.01.002>
 36. *DiCarlo G.E., Aguilar J.I., Matthies H.J., Harrison F.E., Bundschuh K.E., West A., Hashemi P., Herborg F., Rickhag M., Chen H., et al.* // *J. Clin. Invest.* 2019. V. 129. № 8. P. 3407–3419.
<https://doi.org/10.1172/JCI127411>
 37. *Gadow K.D., Pinsonneault J.K., Perlman G., Sadee W.* // *Res. Dev. Disabil.* 2014. V. 35. № 7. P. 1658–1665.
<https://doi.org/10.1016/j.ridd.2014.04.007>
 38. *Yoshida K., Bies R.R., Suzuki T., Remington G., Pollock B.G., Mizuno Y., Mimura M., Uchida H.* // *Schizophr. Res.* 2014. V. 153. № 1–3. P. 184–188.
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.01.017>
 39. *Li P., Snyder G.L., Vanover K.E.* // *Curr. Top. Med. Chem.* 2016. V. 16. № 29. P. 3385–3403.
<https://doi.org/10.2174/1568026616666160608084834>
 40. *Mannens G., Huang M.L., Meuldermans W., Hendrickx J., Woestenborghs R., Heykants J.* // *Drug Metab. Dispos.* 1993. V. 21. № 6. P. 1134–1141.
 41. *Kusumi I., Boku S., Takahashi Y.* // *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2015. V. 69. № 5. P. 243–258.
<https://doi.org/10.1111/pcn.12242>
 42. *Poo S.X., Agius M.* // *Psychiatr. Danub.* 2015. V. 27. № 1. P. 255–260.
 43. *Shea S., Turgay A., Carroll A., Schulz M., Orlik H., Smith I., Dunbar F.* // *Pediatrics.* 2004. V. 114. № 5. P. e634–e641.
<https://doi.org/10.1542/peds.2003-0264-F>
 44. *Hirsch L.E., Pringsheim T.* // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016. V. 6. P. CD009043.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD009043.pub3>
 45. *Maneeton N., Maneeton B., Putthisri S., Woottituk P., Narkpongphun A., Srisurapanont M.* // *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2018. V. 14. P. 1811–1820.
<https://doi.org/10.2147/NDT.S151802>
 46. *Ichikawa H., Mikami K., Okada T., Yamashita Y., Ishizaki Y., Tomoda A., Ono H., Usuki C., Tadori Y.* // *Child Psychiatry Hum. Dev.* 2017. V. 48. № 5. P. 796–806.
<https://doi.org/10.1007/s10578-016-0704-x>
 47. *Ichikawa H., Hiratani M., Yasuhara A., Tsujii N., Oshimo T., Ono H., Tadori Y.* // *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2018. V. 72. № 2. P. 84–94.
<https://doi.org/10.1111/pcn.12607>
 48. *Lee E.S., Vidal C., Findling R.L.* // *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 2018. V. 28. № 9. P. 582–605.
<https://doi.org/10.1089/cap.2018.0037>
 49. *Loebel A., Brams M., Goldman R.S., Silva R., Hernandez D., Deng L., Mankoski R., Findling R.L.* // *J. Autism Dev. Disord.* 2016. V. 46. № 4. P. 1153–1163.
<https://doi.org/10.1007/s10803-015-2628-x>
 50. *Dominick K., Wink L.K., McDougle C.J., Erickson C.A.* // *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 2015. V. 25. № 5. P. 397–401.
<https://doi.org/10.1089/cap.2014.0111>
 51. *Elbe D., Lalani Z.* // *J. Can. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 2012. V. 21. № 2. P. 130–146.
 52. *Campbell M., Armenteros J.L., Malone R.P., Adams P.B., Eisenberg Z.W., Overall J.E.* // *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 1997. V. 36. № 6. P. 835–843.
<https://doi.org/10.1097/00004583-199706000-00022>
 53. *Olloquequi J., Cornejo-Córdova E., Verdaguier E., Soriano F.X., Binvignat O., Auladell C., Camins A.* // *J. Psychopharmacol.* 2018. V. 32. № 3. P. 265–275.
<https://doi.org/10.1177/0269881118754680>
 54. *Carlsson M.L.* // *J. Neural. Transm. (Vienna).* 1998. V. 105. № 4–5. P. 525–535.
<https://doi.org/10.1007/s007020050076>
 55. *Бокун И.С.* // *Аутизм и нарушения развития.* 2005. Т. 3. № 2. С. 1–24.
 56. *Rose S., Niyazov D.M., Rossignol D.A., Goldenthal M., Kahler S.G., Frye R.E.* // *Mol. Diagn. Ther.* 2018. V. 22. № 5. P. 571–593.
<https://doi.org/10.1007/s40291-018-0352-x>
 57. *Hashem S., Nisar S., Bhat A.A., Yadav S.K., Azeem M.W., Bagga P., Fakhro K., Reddy R., Frenneaux M.P., Haris M.* // *Transl. Psychiatry.* 2020. V. 10. № 1. P. 229.
<https://doi.org/10.1038/s41398-020-00921-3>
 58. *Westmark C.J.* // *Mol. Neurobiol.* 2019. V. 56. № 6. P. 3904–3921.
<https://doi.org/10.1007/s12035-018-1344-x>
 59. *Chung C., Ha S., Kang H., Lee J., Um S.M., Yan H., Yoo Y.E., Yoo T., Jung H., Lee D. et al.* // *Biol. Psychiatry.* 2019. V. 85. № 7. P. 534–543.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.09.025>

60. Kang J., Kim E. // *Front. Mol. Neurosci.* 2015. V. 8. P. 17.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2015.00017>
61. Rinaldi T., Kulangara K., Antonello K., Markram H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 33. P. 13501–13506.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0704391104>
62. Naveed S., Amray A., Waqas A., Chaudhary A.M., Azeem M.W. // *Cureus.* 2017. V. 9. № 11. P. e1888.
<https://doi.org/10.7759/cureus.1888>
63. Minshawi N.F., Wink L.K., Shaffer R., Plawecki M.H., Posey D.J., Liu H., Hurwitz S., McDougle C.J., Swiezy N.B., Erickson C.A. // *Mol. Autism.* 2016. V. 7. P. 2.
<https://doi.org/10.1186/s13229-015-0062-8>
64. Aman M.G., Findling R.L., Hardan A.Y., Hendren R.L., Melmed R.D., Kehinde-Nelson O., Hsu H.A., Trugman J.M., Palmer R.H., Graham S.M. et al. // *J. Child Adolesc. Psychopharmacol.* 2017. V. 27. № 5. P. 403–412.
<https://doi.org/10.1089/cap.2015.0146>
65. King B.H., Wright D.M., Handen B.L., Sikich L., Zimmerman A.W., McMahon W., Cantwell E., Davanzo P.A., Dourish C.T., Dykens E.M. et al. // *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry.* 2001. V. 40. № 6. P. 658–665.
<https://doi.org/10.1097/00004583-200106000-00010>
66. Goel R., Hong J.S., Findling R.L., Ji N.Y. // *Int. Rev. Psychiatry.* 2018. V. 30. № 1. P. 78–95.
<https://doi.org/10.1080/09540261.2018.1458706>
67. Hampson D.R., Blatt G.J. // *Front. Neurosci.* 2015. V. 9. P. 420.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00420>
68. Naaijen J., Bralten J., Poelmans G., Glennon J.C., Franke B., Buitelaar J.K. // *Transl. Psychiatry.* 2017. V. 7. № 1. P. e999.
<https://doi.org/10.1038/tp.2016.273>
69. Shetty A.K., Bates A. // *Brain Res.* 2016. V. 1638. Pt. A. P. 74–87.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.09.019>
70. García-Oscos F., Torres-Ramírez O., Dinh L., Galindo-Charles L., Pérez Padilla E.A., Pineda J.C., Atzori M., Salgado H. // *Synapse.* 2015. V. 69. № 3. P. 115–127.
<https://doi.org/10.1002/syn.21794>
71. Di J., Li J., O'Hara B., Alberts I., Xiong L., Li J., Li X. // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2020. V. 80. № 2. P. 73–85.
<https://doi.org/10.1002/jdn.10005>
72. Al-Otaish H., Al-Ayadhi L., Björklund G., Chirumbolo S., Urbina M.A., El-Ansary A. // *Metab. Brain Dis.* 2018. V. 33. № 3. P. 843–854.
<https://doi.org/10.1007/s11011-018-0186-6>
73. Ford T.C., Nibbs R., Crewther D.P. // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 7. P. e0181961.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181961>
74. Horder J., Petrinovic M.M., Mendez M.A., Bruns A., Takumi T., Spooren W., Barker G.J., Künnecke B., Murphy D.G. // *Transl. Psychiatry.* 2018. V. 8. № 1. P. 106.
<https://doi.org/10.1038/s41398-018-0155-1>
75. Puts N., Wodka E.L., Harris A.D., Crocetti D., Tommerdahl M., Mostofsky S.H., Edden R. // *Autism Res.* 2017. V. 10. № 4. P. 608–619.
<https://doi.org/10.1002/aur.1691>
76. Mahdavi M., Kheirollahi M., Riahi R., Khorvash F., Khorrami M., Mirsafae M. // *J. Mol. Neurosci.* 2018. V. 65. № 1. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1007/s12031-018-1073-7>
77. Varman D.R., Soria-Ortiz M.B., Martínez-Torres A., Reyes-Haro D. // *Neurosci. Lett.* 2018. V. 687. P. 158–163.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.09.042>
78. Hou Q., Wang Y., Li Y., Chen D., Yang F., Wang S. // *Front. Behav. Neurosci.* 2018. V. 12. P. 182.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00182>
79. Veenstra-VanderWeele J., Cook E.H., King B.H., Zarevics P., Cherubini M., Walton-Bowen K., Bear M.F., Wang P.P., Carpenter R.L. // *Neuropsychopharmacology.* 2017. V. 42. № 7. P. 1390–1398.
<https://doi.org/10.1038/npp.2016.237>
80. Berry-Kravis E., Hagerman R., Visootsak J., Budimirovic D., Kaufmann W.E., Cherubini M., Zarevics P., Walton-Bowen K., Wang P., Bear M.F. et al. // *J. Neurodev. Disord.* 2017. V. 9. P. 3.
<https://doi.org/10.1186/s11689-016-9181-6>
81. Lemonnier E., Villeneuve N., Sonie S., Serret S., Rosier A., Roue M., Brosset P., Viellard M., Bernoux D., Rondeau S. et al. // *Transl. Psychiatry.* 2017. V. 7. № 5. P. e1124.
<https://doi.org/10.1038/tp.2017.101>
82. Schmitz T.W., Duncan J. // *Trends Cogn. Sci.* 2018. V. 22. № 5. P. 422–437.
<https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.02.011>
83. Hampel H., Mesulam M.M., Cuello A.C., Farlow M.R., Giacobini E., Grossberg G.T., Khachaturian A.S., Vergallo A., Cavedo E., Snyder P.J. et al. // *Brain.* 2018. V. 141. № 7. P. 1917–1933.
<https://doi.org/10.1093/brain/awy132>
84. Avale M.E., Chabout J., Pons S., Serreau P., De Chaumont F., Olivo-Marin J.C., Bourgeois J.P., Maskos U., Changeux J.P., Granon S. // *FASEB J.* 2011. V. 25. № 7. P. 2145–2155.
<https://doi.org/10.1096/fj.10-178558>
85. Varghese M., Keshav N., Jacot-Descombes S., Warda T., Wicinski B., Dickstein D.L., Harony-Nicolas H., De Rubeis S., Drapeau E., Buxbaum J.D. et al. // *Acta Neuropathol.* 2017. V. 134. № 4. P. 537–66.
<https://doi.org/10.1007/s00401-017-1736-4>
86. Friedman S.D., Shaw D.W., Artru A.A., Dawson G., Petropoulos H., Dager S.R. // *Arch. Gen. Psychiatry.* 2006. V. 63. № 7. P. 786–794.
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.7.786>
87. Wang L., Almeida L.E., Spornick N.A., Kenyon N., Kamimura S., Khaibullina A., Nouraie M., Quezado Z.M. // *Psychopharmacology (Berl.).* 2015. V. 232. № 23. P. 4303–4316.
<https://doi.org/10.1007/s00213-015-4058-z>
88. Martin-Ruiz C.M., Lee M., Perry R.H., Baumann M., Court J.A., Perry E.K. // *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2004. V. 123. № 1–2. P. 81–90.
<https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2004.01.003>
89. Lee M., Martin-Ruiz C., Graham A., Court J., Jaros E., Perry R., Iversen P., Bauman M., Perry E. // *Brain.* 2002. V. 125. Pt. 7. P. 1483–1495.
<https://doi.org/10.1093/brain/awf160>
90. Léna C., Popa D., Grailhe R., Escourrou P., Changeux J.P., Adriani J. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. № 25. P. 5711–

5718.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3882-03.2004>
91. Ross S.A., Wong J.Y., Clifford J.J., Kinsella A., Mas-salas J.S., Horne M.K., Scheffer I.E., Kola I., Wadding-ton J.L., Berkovic S.F., Drago J. // J. Neurosci. 2000. V. 20. № 17. P. 6431–6441.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-17-06431.2000>
92. Wu W.L., Adams C.E., Stevens K.E., Chow K.H., Freedman R., Patterson P.H. // Brain Behav. Immun. 2015. V. 46. P. 192–202.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.02.005>
93. Gabis L.V., Ben-Hur R., Shefer S., Jokel A., Shalom D.B. // J. Mol. Neurosci. 2019. V. 69. № 2. P. 224–234.
<https://doi.org/10.1007/s12031-019-01351-7>
94. Bruno J.L., Hosseini S.H., Lightbody A.A., Man-chanda M.K., Reiss A.L. // J. Psychopharmacol. 2019. V. 33. № 8. P. 975–985.
<https://doi.org/10.1177/0269881119858304>
95. Ghaleiha A., Ghyasvand M., Mohammadi M. R., Farokhnia M., Yadegari N., Tabrizi M., Hajiaghae R., Yekehtaz H., Akhondzadeh S. // J. Psychopharmacol. 2014. V. 28. № 7. P. 677–685.
<https://doi.org/10.1177/0269881113508830>
96. Souders M.C., Zavodny S., Eriksen W., Sinko R., Con-nell J., Kerns C., Schaaf R., Pinto-Martin J. // Curr. Psychiatry Rep. 2017. V. 19. № 6. P. 34.
<https://doi.org/10.1007/s11920-017-0782-x>
97. Chuffa L.G.A., Lupi L.A., Cuciello M.S., Silveira H.S., Reiter R.J., Seiva F.R.F. // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 21. № 1. P. 300.
<https://doi.org/10.3390/ijms21010300>
98. Jin Y., Choi J., Won J., Hong Y. // Molecules. 2018. V. 23. № 1. P. 198.
<https://doi.org/10.3390/molecules23010198>
99. Tordjman S., Najjar I., Bellissant E., Anderson G.M., Barburoth M., Cohen D., Jaafari N., Schischmanoff O., Fagard R., Lagdas E. et al. // Int. J. Mol. Sci. 2013. V. 14. № 10. P. 20508–20542.
<https://doi.org/10.3390/ijms141020508>
100. Braam W., Ehrhart F., Maas A.P.H.M., Smits M.G., Curfs L. // Res. Dev. Disabil. 2018. V. 82. P. 79–89.
<https://doi.org/10.1016/j.ridd.2018.02.017>
101. Rossignol D.A., Frye R.E. // Dev. Med. Child Neurol. 2011. V. 53. № 9. P. 783–792.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2011.03980.x>
102. Jenabi E., Ataie S., Bashirian S. // Korean J. Pediatr. 2019. V. 62. № 11. P. 405–409.
<https://doi.org/10.3345/kjp.2019.00668>
103. Gringras P., Nir T., Breddy J., Frydman-Marom A., Findling R.L. // J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychia-try. 2017. V. 56. № 11. P. 948–57.e4.
<https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.09.414>
104. Howes O.D., Rogdaki M., Findon J.L., Wichers R.H., Charman T., King B.H., Loth E., McAlonan G.M., Mc-Cracken J.T., Parr J.R. et al. // J. Psychopharmacol. 2018. V. 32. № 1. P. 3–29.
<https://doi.org/10.1177/0269881117741766>
105. Gagnon K., Godbout R. // Curr. Dev. Disord. Rep. 2018. V. 5. № 3. P. 197–206.
<https://doi.org/10.1007/s40474-018-0147-0>
106. Husarova V.M., Lakatosova S., Pivovarciova A., Babinska K., Bakos J., Durdiakova J., Kubranska A., Ondrejka I., Ostatnikova D. // Psychiatry Investig. 2016. V. 13. № 2. P. 174–183.
<https://doi.org/10.4306/pi.2016.13.2.174>
107. Parker K.J., Garner J.P., Libove R.A., Hyde S.A., Hornbeak K.B., Carson D.S., Liao C.P., Phillips J.M., Hallmayer J.F., Hardan A.Y. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. V. 111. № 33. P. 12258–12263.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1402236111>
108. Rajamani K.T., Wagner S., Grinevich V., Harony-Nico-las H. // Front. Synaptic Neurosci. 2018. V. 10. P. 17.
<https://doi.org/10.3389/fnsyn.2018.00017>
109. Gauthier C., Doyen C., Amado I., L  o H., Gaillard R. // Encephale. 2016. V. 42. № 1. P. 24–31.
<https://doi.org/10.1016/j.encep.2015.07.006>
110. Ooi Y.P., Weng S.J., Kossowsky J., Gerger H., Sung M. // Pharmacopsychiatry. 2017. V. 50. № 1. P. 5–13.
<https://doi.org/10.1055/s-0042-109400>
111. Parker K.J., Oztan O., Libove R. A., Sumiyoshi R.D., Jackson L.P., Karhson D.S., Summers J.E., Hinman K.E., Motonaga K.S., Phillips J.M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017. V. 114. № 30. P. 8119–8124.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1705521114>
112. Sandman C.A., Kemp A.S. // Pharmaceuticals (Basel). 2011. V. 4. № 2. P. 366–381.
<https://doi.org/10.3390/ph4020366>
113. Roy A., Roy M., Deb S., Unwin G., Roy A. // J. Intellect. Disabil. Res. 2015. V. 59. № 4. P. 293–306.
<https://doi.org/10.1111/jir.12122>
114. Penke B., Fulop L., Szucs M., Frecska E. // Curr. Neu-ropharmacol. 2018. V. 16. № 1. P. 97–116.
<https://doi.org/10.2174/1570159X15666170529104323>
115. Delprat B., Crouzier L., Su T.P., Maurice T. // Adv. Exp. Med. Biol. 2020. V. 1131. P. 699–718.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-12457-1_28
116. Vavers E., Zvejniece L., Maurice T., Dambrova M. // Front. Pharmacol. 2019. V. 10. P. 223.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00223>
117. Morales-L  azaro S.L., González-Ramírez R., Rosen-baum T. // Front. Pharmacol. 2019. V. 10. P. 419. Pub-lished 2019 Apr. 24.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00419>
118. Su T.P., Su T.C., Nakamura Y., Tsai S.Y. // Trends Pharmacol. Sci. 2016. V. 37. № 4. P. 262–278.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.01.003>
119. Nguyen R.L., Medvedeva Y.V., Ayyagari T.E., Schmunk G., Gargus J.J. // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res. 2018. V. 1865. № 11. Pt. B. P. 1718–1732.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.003>
120. Середенин С.Б., Воронин М.В. // Эксперим. и клин. фармакология. 2009. Т. 72. № 1. С. 3–11.
121. Кадников И.А., Воронин М.В., Середенин С.Б. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2018. Т. 3. С. 27–30.
122. Силкина И.В., Ганьшина Т.С., Середенин С.Б., Мир-зоян Р.С. // Эксперим. и клин. фармакология. 2005. Т. 68. № 1. С. 20–24.
123. Середенин С.Б., Гарибова Т.А., Кузнецова А.Л., Во-ронин М.В., Яркова М.А., Воронина Т.А. // Экспе-рим. и клин. фармакология. 2009. Т. 72. № 1. С. 15–28.

124. Ястребов Д.В., Михайлова О.И., Костычева Е.А. // Психиатрия и психофармакотерапия. 2013. Т. 15. № 5. С. 32–35.
125. Богдан Н.Г., Колотилинская Н.В., Надоров С.А., Яркова М.А., Бадыштов Б.А. // Эксперим. и клин. фармакология. 2011. Т. 74. № 8. С. 8–12.
126. Сюняков Т.С., Незнамов Г.Г. // Терапевтический архив. 2016. Т. 88. № 8. С. 73–86. <https://doi.org/10.17116/terarkh201688873-86>
127. Беккер Р.А., Быков Ю.В. // Психиатрия и психофармакотерапия. 2017. Т. 19. № 4. С. 12–21.
128. Капица И.Г., Калинина А.П., Алымов А.А., Воронина Т.А., Середенин С.Б. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. Т. 168. № 8. С. 191–194. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04682-y>
129. Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А., Калинина А.П., Середенин С.Б. // Эксперим. и клин. фармакология. 2019. Т. 82. № 10. С. 3–7. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-10-3-7>
130. Патент РФ на изобретение №RU 2666598 С1/11.09.18. Середенин С.Б., Капица И.Г., Иванова Е.А., Воронина Т.А. Средство для коррекции расстройств аутистического спектра. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37359296>.

Neurochemical Mechanisms of Pathogenesis and Pharmacological Correction of Autism Spectrum Disorders: Current Concepts and Prospects

A. A. Alymov^a, I. G. Kapitsa^a, and T. A. Voronina^a

^aFederal State Budgetary Institution “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russia

The presence of a significant and constantly growing global prevalence of autism spectrum disorders (ASD), coupled with the ongoing search for optimal drugs and treatments, is causing increased interest in this disease. In the modern medical literature, there is an abundant number of publications on disorders in the functioning and interaction of neurotransmitter systems in ASD and methods of their pharmacological correction. It has been established that the serotonergic, glutamatergic, GABAergic, dopaminergic, cholinergic, and opiate systems of the brain may be involved in the pathogenesis of ASD; disturbances in the metabolism of oxytocin, arginine-vasopressin, and melatonin may also contribute. This literature review presents an analysis of the main changes in these systems in ASD, methods of drug exposure to them, and directions for further search for relevant pathogenetic targets and drugs.

Keywords: autism spectrum disorders, autism, ASD, treatment of ASD, pathogenesis of ASD

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ
РАБОТЫ

УДК 612.822.3

РОЛЬ ГИПОТАЛАМУСА В ФОРМИРОВАНИИ НЕЙРОННЫХ
ОТОБРАЖЕНИЙ АССОЦИАЦИЙ ОБЪЕКТ–МЕСТО В ГИППОКАМПЕ
ПРИ БОДРСТВОВАНИИ И ПАРАДОКСАЛЬНОМ СНЕ

© 2021 г. И. Г. Силькис*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Россия

Поступила в редакцию 05.01.2021 г.

После доработки 06.01.2021 г.

Принята к публикации 07.01.2021 г.

Проведен сравнительный анализ особенностей формирования нейронных отображений ассоциаций объект–место в гиппокампе в состояниях бодрствования и парадоксального сна. На активность гиппокампальных нейронов влияют супрамамиллярное, паравентрикулярное и супраоптическое ядра гипоталамуса. В состоянии бодрствования при прохождении сигналов из зубчатой извилины через поле СА3 в поле СА1 на нейронах этих областей формируются последовательно усложняющиеся отображения ассоциаций объект–место. Входы из супрамамиллярного ядра в зубчатую извилину и поле СА2, а также входы в поле СА2 из паравентрикулярного и супраоптического ядер гипоталамуса, нейроны которых выделяют вазопрессин и окситоцин, облегчают передачу сигналов в поле СА1 за счет индукции длительной потенциации эффективности связей СА3–СА2, СА2–СА1 и суммации возбуждения, поступающего из полей СА3 и СА2 на те нейроны поля СА1, связанные с префронтальной корой. Информация о запахах, поступающая в поле СА2 из обонятельной луковицы через паравентрикулярное и супраоптическое ядра, встраивается в отображения ассоциаций объект–место. При парадоксальном сне, когда передача сигналов по цепи зубчатая извилина–СА3–СА1 затруднена, входы из гипоталамических ядер способствуют облегчению длительной потенциации в каждом из звеньев цепи зубчатая извилина–СА2–СА1. Вследствие этого при парадоксальном сне улучшаются условия для формирования новых отображений ассоциаций объект–место на пирамидных нейронах поля СА2 и их клетках-мишенях в поле СА1, связанных с миндалиной. Из проведенного анализа следует, что при парадоксальном сне на нейронах гиппокампа формируются отображения ассоциаций объект–место, отличные от тех, которые образуются в состоянии бодрствования.

Ключевые слова: ядра гипоталамуса, гиппокамп, синаптическая пластичность, ассоциации объект–место, парадоксальный сон

DOI: 10.31857/S102781332102014X

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени накоплен ряд данных, свидетельствующих о важной роли парадоксального сна (ПС) для запоминания информации [1]. Недавно с помощью электрофизиологической регистрации и оптогенетической техники впервые показа-

но, что для консолидации пространственной и контекстуальной памяти необходима нейронная активность, генерируемая во время ПС [2]. Длительная депривация сна приводила к нарушению индукция длительной потенциации (ДП) в гиппокампе и пространственной памяти [3].

В наших предшествующих работах было указано на то, что процесс формирования отображений ассоциаций объект–место в активности нейронов гиппокампальной формации в состояниях бодрствования и ПС должен различаться [4, 5]. Различия обусловлены тем, что формирование ассоциаций базируется на длительных изменениях эффективности синаптической передачи между нейронами гиппокампа, зависящих от концентраций нейромодуляторов, которые в состояниях бодрствования и ПС различны [6, 7]. С учетом

Принятые сокращения: ДП – длительная потенция эффективности возбуждательного синаптического входа; ДД – длительная депрессия эффективности возбуждательного синаптического входа; ЗИ – зубчатая извилина; ПВЯ – паравентрикулярное ядро гипоталамуса; ПН – пирамидный нейрон; ПС – парадоксальный сон; ПФК – префронтальная кора; РЕ – реуниенс (таламическое ядро средней линии); СМЯ – супрамамиллярное ядро гипоталамуса; СОЯ – супраоптическое ядро гипоталамуса; ЭК – энторинальная кора

* Адресат для корреспонденции: 117865 Россия, Москва, ул. Бутлерова, д. 5а; тел.: 495-789-38-52, e-mail: isa-silkis@mail.ru.

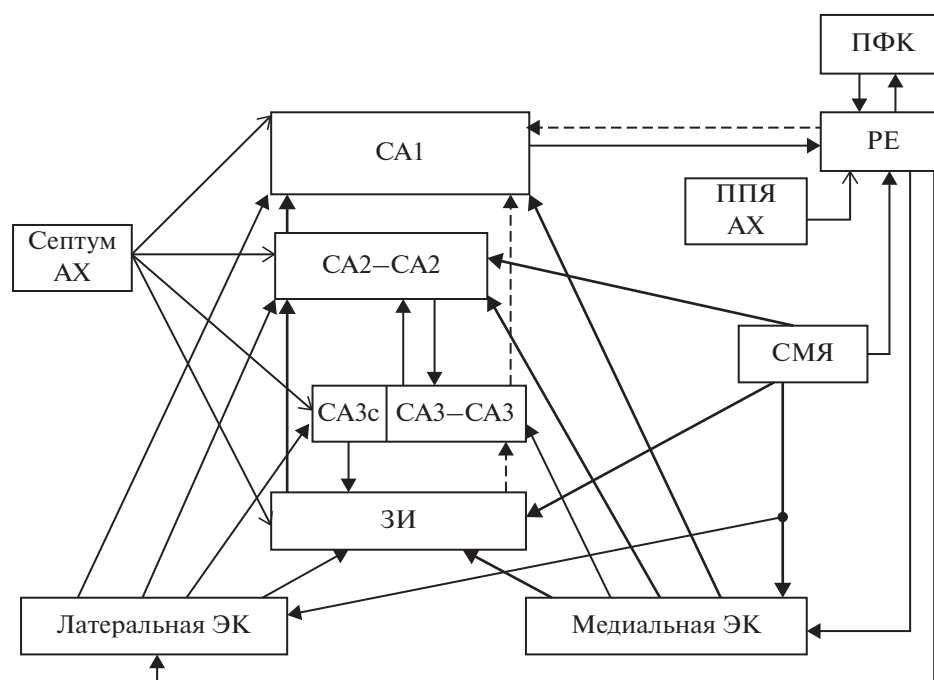


Рис. 1. Влияние супрамамиллярного ядра на прохождение сигналов через гиппокампальную формацию и формирование отображений ассоциаций объект–место на нейронах гиппокампа. ЭК — энторинальная кора; ЗИ — зубчатая извилина; CA1, CA2, CA3 — поля гиппокампа; CA2–CA2 и CA3–CA3 — связи между пирамидными нейронами поля; СМЯ — супрамамиллярное ядро гипоталамуса; ПФК — префронтальная кора; РЕ — таламическое ядро реуниенса; ППЯ — педунклопонтинное ядро; АХ — ацетилхолин. Линии с открытыми стрелками — нейромодуляторные входы; утолщенные и пунктирные линии со стрелками — соответственно потенцированные и депрессированные входы в состоянии парадоксального сна. С целью упрощения не представлены входы из полей CA1, CA2 и CA3 обратно в ЭК, а также входы из ядра шва и голубого пятна, поскольку серотонин и норадреналин при парадоксальном сне не выделяются.

сформулированных нами правил модуляции эффективности синаптической передачи (в дальнейшем правил модуляции), было сделано заключение, что во время ПС высокая концентрация ацетилхолина, а также отсутствие серотонина и норадреналина, могут способствовать индукции длительной депрессии (ДД) эффективности передачи в каждом из звеньев классического три-синаптического пути через гиппокамп [4, 8–10]. Этот путь начинается в энторинальной коре (ЭК), из которой сигналы по перфорантным волокнам поступают в зубчатую извилину (ЗИ), затем сигналы от гранулярных клеток ЗИ по мшистым волокнам поступают в поле CA3, а из него по коллатералям Шаффера в поле CA1. Из поля CA1 активность передается в другие структуры, а также возвращается в ЭК (рис. 1). В последнее время значительное внимание уделяется роли гиппокампального поля CA2 в процессах памяти и обучения [11–14]. На активность нейронов этого поля существенно влияют нейропептиды, выделяемые нейронами гипоталамических ядер супрамамиллярного (СМЯ), паравентрикулярного (ПВЯ) и супраоптического (СОЯ). Анализ возможных механизмов участия этих нейропептидов в формировании нейронных отображений ассоциаций объект–место в разных полях гиппокам-

па в состоянии бодрствования проведен в предшествующей работе [15]. Ряд данных указывает на то, что в состояниях ПС и бодрствования нейроны ПВЯ и СОЯ выделяют разное количество вазопрессина и окситоцина [16–18]. Активность нейронов СМЯ в указанных функциональных состояниях также отличается [19–21].

Результаты современных исследований свидетельствуют о том, что для обучения и памяти необходимо взаимодействие гиппокампа с ПФК. Хотя вентральный гиппокамп (через субикулум) проецируется непосредственно в медиальную ПФК [22], обратные проекции из этой области коры в гиппокамп отсутствуют [23]. Взаимодействие осуществляется через таламическое ядро средней линии реуниенса (РЕ) по цепи гиппокамп–медиальная ПФК–РЕ–гиппокамп [24]. Эффективность возбуждательного входа РЕ–CA1 может потенцироваться [25], что должно усилить взаимодействие этого ядра с гиппокампом.

Целью настоящей работы являлся сравнительный анализ особенностей формирования нейронных отображений ассоциаций объект–место в разных полях гиппокампа в состояниях бодрствования и ПС. Основное внимание уделено влиянию ядер гипоталамуса (СМЯ, ПВЯ и СОЯ)

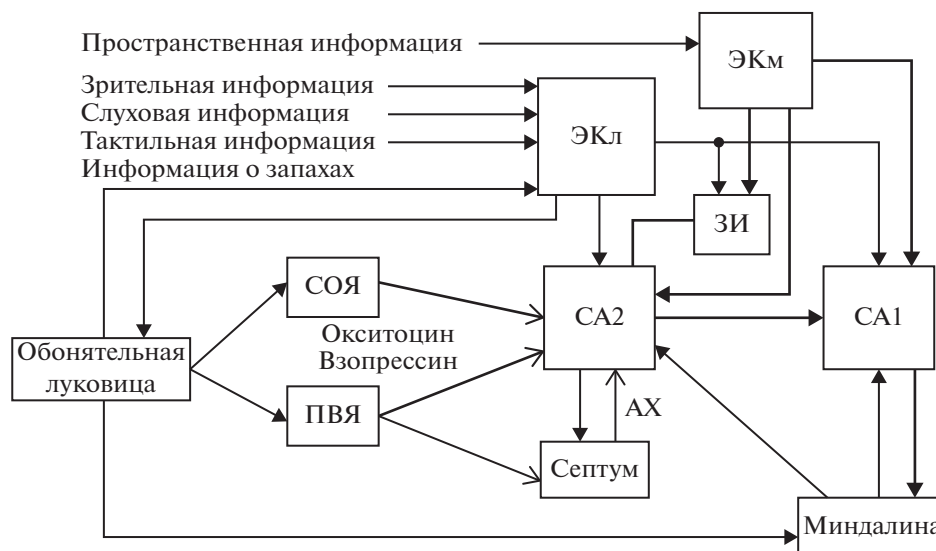


Рис. 2. Влияние ядер гипоталамуса на формирование отображений ассоциаций объект–место на нейронах гиппокампа. ПВЯ и СОЯ – паравентрикулярное и супраоптическое ядра гипоталамуса соответственно; ЭКм и ЭКл – медиальная и латеральная части энторинальной коры соответственно. Остальные обозначения как на рис. 1. Поле СА3 не представлено с целью упрощения.

на процессы формирования отображений ассоциаций.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ОТОБРАЖЕНИЙ АССОЦИАЦИЙ ОБЪЕКТ–МЕСТО НА НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА В СОСТОЯНИИ БОДРСТВОВАНИЯ

В предшествующих работах нами проведен анализ возможных механизмов формирования отображений ассоциаций объект–место по мере продвижения сигналов из ЗИ через поля СА3 и СА2 в поле СА1 [9, 10, 15] (рис. 1). Было указано на то, что при этом на гранулярных клетках ЗИ, а также на пирамидных нейронах (ПН) полей СА3, СА2 и СА1 формируются усложняющиеся отображения ассоциаций более высоких порядков. Формированию отображений ассоциаций объект–место на нейронах полей СА2 и СА1 способствует вход из СМЯ в поле СА2, поскольку он облегчает индукцию ДП эффективности передачи в пути СА2-СА1 и суммацию возбуждения, поступающего из полей СА3 и СА2 на ПН поля СА1 [15] (рис. 1). О вовлеченности СМЯ в рабочую память и обучение, свидетельствуют данные о том, что временная инактивация СМЯ нарушает способность крыс решать задачи, требующие участия рабочей памяти [26]. В поле СА2 из обонятельной луковицы через ядра гипоталамуса ПВЯ и СОЯ поступает информация о запахах (рис. 2). Нейроны ядер ПВЯ и СОЯ синтезируют вазопрессин и окситоцин, которые оказывают существенное влияние на функционирование гиппокампа, социальное поведение и социальную память [27,

28]. Это влияние реализуется благодаря облегчающему действию вазопрессина и окситоцина на индукцию ДП эффективности синаптических входов к ПН поля СА2 [29, 30]. На индукцию ДП в поле СА1 эти нейромодуляторы не влияют, по-видимому, потому, что плотность чувствительных к вазопрессину и окситоцину рецепторов большая только в поле СА2 и верхней части поля СА3 (СА3а) [27, 31]. Благодаря облегчению индукции ДП, улучшаются условия формирования в активности нейронов поля СА2 отображений ассоциаций объект–место. По-видимому, вазопрессин способствует встраиванию информации о запахах в отображения ассоциаций объект–место на нейронах поля СА2 [15] и на их клетках-мишенях в поле СА1 (рис. 1). Авторы работы [14] полагают, что вазопрессин способствует формированию ассоциаций между обонятельными сигналами и социальными контактами, благодаря большому количеству чувствительных к нему рецепторов на ПН поля СА2.

Известные из литературы экспериментальные данные указывают на специализацию проекций СА2-СА1. Так, вход из передней части поля СА2/СА3 в заднюю часть поля СА1 играет важную роль в задаче на дискриминацию социальных стимулов и социальное узнавание, тогда как вход из передней части поля СА2/СА3 в переднюю часть поля СА1 участвует в дискриминации стимулов не связанных с социальными событиями [11]. В глубоком слое дорзальной части поля СА1 (слое СА1с), расположенном ближе к полю СА2, кодируется пространственная информация, а на нейронах вышележащего слоя СА1а, распо-

женного ближе к субикулуму, кодируется непространственная информация [12]. Эту функциональную специализацию связывают с различной организацией входов к ПН разных слоев поля СА1 [12]. Так, аксоны ПН поля СА3 оканчиваются на апикальных дендритах того ряда ПН поля СА1, который расположен ближе к слою радиатум, тогда как аксонные ветвления ПН поля СА2 оканчиваются на базальных дендритах ПН поля СА1, расположенных ближе к слою ориенс [32–35]. Вследствие этого, информация от отображений ассоциаций объект–место, сформированных на ПН полей СА2 и СА3, поступает на нейроны разных слоев поля СА1. На базальных дендритах тех ПН поля СА1, которые расположены ближе к слою ориенс и проецируются в миндалину, аксонные окончания ПН поля СА2 составляют примерно 20% всех контактов. Благодаря этим контактам, гиппокамп через миндалину может влиять на обработку информации, связанной с эмоциями и с социальным поведением [36, 37]. Базолатеральное ядро миндалины, в свою очередь, влияет на активность нейронов поля СА2 [28]. Полагают, что в активности нейронов поля СА2 уже существующее отображение пространства модулируется с учетом социальных стимулов [38]. Введение антагониста ГАМК_A рецепторов пикротоксина в базолатеральную миндалину приводило к увеличению активности ПН поля СА2 [39]. Судя по этим данным, при нормальном уровне торможения вход из миндалины препятствует чрезмерному увеличению активности ПН поля СА2. Следует отметить, что в структурах, влияющих на функционирование гиппокампа, таких как субикулум, ядро РЕ, перегородка, а также СМЯ и ПВЯ, были обнаружены клетки, электрическая стимуляция которых могла вызывать эмоциональные реакции [40].

Показано, что разряды нейронов дорзальной части поля СА1, ядра РЕ и медиальной ПфК синхронизируются в тета-ритме, причем эта синхронизация зависит от активности нейронов ядра РЕ [41]. Инактивация НМДА рецепторов в ядре РЕ (что должно было уменьшить активность нейронов в этом ядре) нарушала когерентность в тета-ритме между ПфК и гиппокампом [41]. В результате инактивации ядра РЕ существенно уменьшалось число нейронов медиальной ПфК, чья активность была привязана по фазе к гиппокампальному тета-ритму [42]. Поскольку синхронизация активности пре- и постсинаптической клеток обеспечивает выполнение правила Хебба, она может способствовать индукции ДП. Поэтому можно ожидать, что при наличии тета-ритма будет облегчаться связь гиппокампа с другими структурами. Действительно, стимуляция в тета-ритме входа медиальная ЭК-СА1 способствовала индукции гетеросинаптической ДП на входе ядро РЕ-СА1 [43]. Повидимому, этому эффекту способствует конвер-

генция аксонных окончаний нейронов ядра РЕ и ЭК на одних и тех же участках дендритного дерева ПН поля СА1 [24]. Повреждение ядра РЕ ухудшало условия для индукции ДП в поле СА1. При этом на дендритах ПН поля СА1 не образовывались новые грибообразные шипики, а также снижалась экспрессия c-Fos в этом поле [44].

О влиянии ядра РЕ на формирование ассоциаций объект–место свидетельствуют данные о том, что временная инактивация ядра РЕ при выполнении задач на запоминание ассоциаций объект–место, как и прерывание взаимодействия гиппокампа с медиальной ПфК, препятствовали как кодированию, так и извлечению из памяти ассоциаций объект–место [45, 46]. При повреждении ядра РЕ нарушалось отображение окружающей среды на нейронах поля СА1 гиппокампа [47]. Кроме того, значительно ухудшалась долговременная память, необходимая для распознавания предмета в определенном локусе пространства [43]. При этом память на распознавание только предмета или только локуса сохранялась. Примечательно, что повреждение ядра РЕ специфически нарушало отложенную пространственную память, тогда как оно не влияет на приобретение или извлечение из памяти недавно запомненной информации [25]. Эти данные указывают на важный вклад ядра РЕ и таламо-корковой синхронизации в встраивание информации в долговременную память [25].

Привязку к тета-ритму в поле СА1 наблюдали в активности нейронов не только ядра РЕ, но и СМЯ [48]. Примечательно, что оптогенетическое отключение СМЯ уменьшало координированную активность в тета-ритме в цепи ПфК-РЕ-СА1 [48]. Эти данные указывают на вклад СМЯ в синхронизированную активность, связывающую гиппокамп с ядром РЕ и новой корой. Кроме того, после инактивации СМЯ нарушалось отображение пространственной траектории в поле СА1 и в ядре РЕ, тогда как в медиальной ПфК такого эффекта не наблюдалось [48]. Эти данные свидетельствуют в пользу влияния СМЯ на отображение пространственной информации в гиппокампе.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ОТОБРАЖЕНИЙ АССОЦИАЦИЙ ОБЪЕКТ– МЕСТО НА НЕЙРОНАХ ГИППОКАМПА ПРИ ПАРАДОКСАЛЬНОМ СНЕ

Влияние ядер гипоталамуса на формирование ассоциаций объект–место при ПС. Имеется ряд данных, указывающих на то, что переход от медленноволнового сна к ПС является следствием изменений активности глутаматергических и ГАМКергических нейронов в заднем гипоталамусе [49]. При ПС одна часть нейронов заднего латерального гипоталамуса практически перестает разряжаться, но активность другой группы нейронов иногда даже выше, чем в состоянии бодрство-

вания [50]. Поскольку нейроны заднего гипоталамуса проецируются в структуры, напрямую иннервирующие гиппокамп, а именно, в СМЯ, ядро РЕ, перегородку и периринальную кору [51], активность каждой из указанных структур также должна измениться. Показано, что при ПС сильно активированы нейроны ЗИ, а также лимбических областей коры — передней цингулярной, ретроспленальной, медиальной энторинальной [52]. Поскольку указанные лимбические структуры участвуют в пространственной памяти, их активация при ПС может быть критичной для ее консолидации [52].

Полагают, что во время ПС к улучшению условий для перехода от кратковременной потенциации к ДП может приводить увеличение секреции нейропептидов в ядрах гипоталамуса [53]. Оно достигает суточного максимума во второй половине сна, когда преобладают фазы ПС [54]. Одним из таких ядер является СМЯ. Показано, что при ПС и в состоянии бодрствования активны разные группы нейронов СМЯ, иннервирующие разные группы клеток в гиппокампальной формации [21, 55, 56]. В состоянии бодрствования активны нейроны задней и медиальной частей СМЯ, из аксонных терминалей которых выделяется только глутамат. Они иннервируют исключительно внутренний молекулярный слой вентральной части ЗИ и слой ПН в полях СА2 и СА3а [21]. Инактивация этих нейронов СМЯ приводит к сонливости [56]. Нейроны латеральной части СМЯ, которые во время ПС выделяют глутамат и ГАМК (их число составляет 15% от общего количества клеток СМЯ [56]), участвуют в тонической активации нейронов лимбических областей [52]. В частности, они иннервируют нейроны дорзальной части ЗИ, куда поступает также возбуждение из медиальной ЭК [55]. Поскольку во время ПС активность нейронов в латеральной части СМЯ вдвое больше, чем в медиальной, полагают, что увеличение активности нейронов ЗИ при ПС связано со входом в ЗИ из латеральной части СМЯ [57]. При ПС влияние СМЯ на активность нейронов ЗИ особенно сильное [58]. Активность нейронов медиальной ЭК во время ПС также больше, чем в состоянии бодрствования, что способствует индукции ДП в синапсах ЭК-ЗИ [57].

Из проведенного ранее анализа следует, что в состоянии бодрствования глутаматергические входы из СМЯ в поле СА2 и в ЗИ способствуют увеличению активности нейронов этих областей и индукции ДП эффективности синаптической передачи в каждом из звеньев классического три-синаптического пути через гиппокамп [59]. Однако при ПС, когда передача сигналов из ЗИ в поле СА3 и из поля СА3 в поле СА1 затруднена, вход из СМЯ способствует улучшению эффективности синаптической передачи в каждом из звеньев цепи ЭК-ЗИ-СА2-СА1 в обход поля СА3 [59] (рис. 1). Из вышеизложенного следует, что вслед-

ствие различия проекций из разных частей СМЯ в гиппокамп, а также разной активности клеток в этих частях СМЯ в состояниях бодрствования и ПС, это ядро гипоталамуса по-разному влияет на функционирование гиппокампа в указанных состояниях. Поскольку при ПС активность ПН поля СА2 высока и эффективность связи СА2-СА1 потенцирована, это может способствовать улучшению условий формирования отображений ассоциаций объект-место на ПН поля СА2 и их клетках-мишенях в поле СА1.

Эффективность влияния вазопрессина и окситоцина на активность нейронов поля СА2 определяется их концентрацией, которая зависит от активности нейронов ПВЯ и СОЯ. Однако данные о концентрации вазопрессина и окситоцина в состояниях ПС и бодрствования противоречивы. С одной стороны, имеются клинические данные о том, что вазопрессин подавляет ПС [60]. Согласно другим данным, вазопрессин существенно увеличивает длительность ПС, хотя и не влияет на время появления его первого эпизода [18]. Введение вазопрессина увеличивало как время сна в целом, так и время периодов ПС во второй половине ночи [61]. У мышей с дефицитом вазопрессина ПС был выражен хуже, чем в контроле [62]. Поскольку орексин А (концентрация которого увеличена в состоянии бодрствования [63]), ингибирует активность нейронов ПВЯ, выделяющих окситоцин [16], можно полагать, что в этом состоянии концентрация вазопрессина и окситоцина меньше, чем при ПС. Косвенным свидетельством в пользу увеличения выделения вазопрессина и окситоцина при ПС могут служить данные о том, что при повреждении 45–86% нейронов ПВЯ гипоталамуса крыс значительно уменьшалось число эпизодов ПС, тогда как ритм медленно-волнового сна не менялся [17]. Как указывалось выше, вазопрессин и окситоцин облегчают индукцию ДП и благодаря этому могут способствовать формированию на нейронах поля СА2 отображений ассоциаций объект-место, включающих информацию о запахах. Если концентрация указанных нейропептидов при ПС выше, чем в состоянии бодрствования, то больше будет выраженность ДП эффективности возбудительных входов к ПН поля СА2 и выше их активность. В результате эффективность связей СА2-СА2 также может возрасти и изменятся условия формирования на ПН этого поля обобщенных отображений ассоциаций объект-место, так что они будут отличаться от тех, которые формируются в состоянии бодрствования. Поскольку при ПС информация поступает в поле СА1 преимущественно из поля СА2, а не из поля СА3, отображения ассоциаций объект-место, сформированные на ПН поля СА1, также будут отличаться от тех, которые образуются в состоянии бодрствования.

В поле СА2 поступает иннервация из миндалины [64]. Поэтому отображения ассоциаций объект–место, сформированные на нейронах этого поля при ПС будут эмоционально окрашены. Выявлен усиливающий эффект поздней фазы ПС на ранее закодированную эмоционально значимую информацию [65]. Показано также, что ПС способствует консолидации эмоциональной памяти [66]. В частности, при ПС улучшалась консолидация негативно окрашенной эмоциональной памяти, причем это улучшение коррелировало с мощностью тета-ритма в префронтальных областях и с временем нахождения в состоянии ПС [67].

Роль тета ритма и ядра РЕ в функционировании гиппокампа при ПС. При ПС, как и во время исследовательского поведения в состоянии бодрствования, разряды нейронов ядра РЕ и ПФК синхронизированы в тета-ритме (4–8 Гц). У человека при ПС генерируется гиппокампальный тета-ритм с частотой 4–7 Гц, но эти осцилляции не непрерывные, как у грызунов, а длятся по 1 с [68]. Полагают, что благодаря осцилляциям в тета-ритме, во время ПС усиливается когерентность в активности нейронов в сети, включающей гиппокамп и ПФК, и это способствует формированию памяти, включая эмоциональную [69–71]. Таким образом, ДП эффективности связи СА2–СА1 во время ПС может способствовать не только высокая активность ПН поля СА2, но и синхронизация активности ПН в этих полях. Повидимому, потенцируется эффективность только части связей СА2–СА1, так как имеются данные, что во время ПС нейроны разных слоев поля СА1 разряжаются различным образом [12, 72, 73]. Этот эффект может быть связан с разной организацией входов к ПН различных слоев поля СА1 из полей СА3 и СА2.

Поскольку при ПС разряды нейронов гиппокампа и ПФК синхронизированы [69, 70], в ритмическую активность должно быть вовлечено и ядро РЕ, связанное с каждой из этих структур. В состоянии бодрствования при исследовательском поведении тета активность способствует усилению связи гиппокампа с ПФК при участии ядра РЕ [74]. Что касается активности ПФК в состоянии ПС, то по одним данным, усиление активности лимбических структур в этом функциональном состоянии сопровождается ослаблением активности ПФК [75]. Однако согласно другим данным, дорзолатеральная ПФК активна при ПС, особенно в начале его возникновения [76].

На активность нейронов ядра РЕ влияют различные нейромодуляторы. В частности, в ядро РЕ проецируются экспрессирующие ацетилхолин нейроны педункулопонтинного и латеродорзального тегментальных ядер, которые сильно активируются при ПС [77]. Оптогенетическая стимуляция холинэргических нейронов педункулопонтинного ядра

приводила к увеличению числа эпизодов ПС [78]. Ацетилхолин увеличивает активность тормозных интернейронов в поле СА1 и вследствие этого уменьшает ответы нейронов поля СА1 на возбуждение, поступающее из поля СА3 и ядра РЕ [79] (рис. 1). В свою очередь, уменьшение эффективности связи РЕ–СА1 при ПС под влиянием ацетилхолина должно ослаблять связь ПФК с полем СА1 через ядро РЕ.

Кроме того, в ядро РЕ проецируются нейроны ядра шва, выделяющие серотонин, и нейроны голубого пятна, которые выделяют норадреналин [77, 80]. Поскольку при ПС серотонин и норадреналин практически не выделяется, это также должно привести к изменению активности нейронов ядра РЕ по сравнению с его активностью в состоянии бодрствования. Хотя характер модулирующего действия серотонина и норадреналина на функционирование ядра РЕ пока не изучен, можно полагать, что вследствие разных концентраций нейромодуляторов в состояниях бодрствования и ПС, условия для обмена информацией между гиппокампом и ПФК через ядро РЕ будут различаться.

СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРЕДЛАГАЕМОГО МЕХАНИЗМА ФОРМИРОВАНИЯ АССОЦИАЦИЙ ОБЪЕКТ–МЕСТО ПРИ ПАРАДОКСАЛЬНОМ СНЕ С СОВРЕМЕННЫМИ ПРЕДСТАВЛЕНИЯМИ ОБ УЧАСТИИ ПАРАДОКСАЛЬНОГО СНА В КОНСОЛИДАЦИИ ПАМЯТИ

Существуют экспериментальные свидетельства в пользу активной, а не пассивной роли сна в консолидации памяти. Они получены в основном в опытах на животных [1, 31, 81, 82], но имеются и данные, полученные на человеке [83, 84]. С помощью регистрации электрической активности и оптогенетической техники показано, что для консолидации пространственной и контекстуальной памяти требуется генерация нейронной активности во время ПС [2]. Имеются данные, что в паттернах гиппокампальной мультинейронной активности следы эпизодов реактивируются во время ПС [85]. Однако в других экспериментах не было обнаружено значительной реактивации во время ПС тех же паттернов активности в гиппокампе, что и при бодрствовании [86]. При ПС, как и в состоянии бодрствования, эффективность связей в гиппокампе меняется. Это проявляется в ДП одних связей и депотенциации других [77]. Например, в состоянии ПС эффективность синаптической связи ЗИ–СА3 меньше, а эффективность связей СА3–СА3 больше, чем при бодрствовании [78].

Одним из существенных вкладов ПС в функционирование гиппокампа является то, что в этом состоянии происходит пролиферация гранулярных клеток ЗИ взрослых крыс [89]. Избирательная депривация ПС значительно ухудшала этот эф-

фект [89–91]. Нейрогенез гранулярных клеток в ЗИ участвует в пластичности гиппокампа на протяжении всей жизни, поскольку он регулируется активностью этих клеток [92]. Показано, что нейрогенез возрастает, если клетки доводили до судорожных разрядов [93]. Новые гранулярные клетки встраиваются в уже существующие нейронные сети и играют важную роль в когнитивных процессах, накоплении в память, извлечении из памяти и консолидации памяти во время сна [94]. Поскольку при ПС влияние со стороны СМЯ приводит к повышению эффективности возбудительного входа из ЭК к гранулярным клеткам ЗИ и, следовательно, к увеличению их активности, из предлагаемого механизма следует, что высокая активность части клеток СМЯ при ПС должна способствовать нейрогенезу.

Предлагаемый нами механизм функционирования гиппокампальной формации при ПС согласуется с современными представлениями об активной роли ПС в консолидации памяти и роли синаптической пластичности в путях, связывающих разные части гиппокампальной формации между собой и с другими структурами. Согласно этому механизму, при ПС усиливается эффективность входов к гранулярным клеткам ЗИ и ПН поля СА2. Этому усилению способствует высокая активность нейронов гипоталамических ядер СМЯ, ПВЯ и СОЯ в состоянии ПС. Вследствие более высокой активности ПН поля СА2 при ПС, чем в состоянии бодрствования, должны улучшиться условия для индукции ДП эффективности связей СА2–СА2 и формирования с их участием обобщенных отображений ассоциаций объект–место. Поскольку улучшатся и условия для усиления входа СА3–СА2, в отображения ассоциаций, сформированных на ПН поля СА2 при ПС, будет включаться информация об ассоциациях, сформированных на ПН поля СА3 при участии взаимодействий СА3–СА3.

Так как при ПС информация поступает в поле СА1 преимущественно из поля СА2 (а не СА3), на ПН поля СА1 будут формироваться усложненные ассоциации объект–место, к которым будет добавляться текущая информация, продолжающая поступать в гиппокамп из ЭК и обонятельной луковицы во время ПС. В пользу формирования новых отображений ассоциаций объект–место и их консолидации во время сна могут частично свидетельствовать результаты работы [94], показавшие, что во время сна происходит связывание социальной информации с пространственным контекстом эпизода. Благодаря этому может улучшаться социальная память, которая является фундаментальным свойством, позволяющим распознавать свой вид в различных контекстах [94]. Таким образом, из проведенного анализа следует, что при ПС отображения ассоциаций объект–место, сформированные на нейронах всех частей гиппокампа

(ЗИ, полей СА3, СА2 и СА1) будут отличаться от тех, которые образуются в состоянии бодрствования. При этом не исключено, что часть нейронов реактивируется.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный в настоящей работе сравнительный анализ возможных механизмов формирования отображений ассоциаций объект–место на нейронах гиппокампальной формации в состояниях бодрствования и ПС представляет интерес в связи с тем, что к настоящему времени получены экспериментальные свидетельства участия гиппокампального поля СА2 в обработке информации и формировании следов памяти, а также о роли ПС в запоминании информации. Анализируемые механизмы базируются на влиянии различных нейромодуляторов на пластические перестройки эффективности возбудительных входов к нейронам разных частей гиппокампальной формации. Поскольку в состояниях ПС и бодрствования концентрации нейромодуляторов отличаются, условия формирования отображений ассоциаций объект–место в этих состояниях также различны. Проведенный анализ позволяет полагать, что в состоянии ПС в основе существенного вклада поля СА2 в консолидацию памяти, связанной с эмоциями, включая социальную память, лежит влияние нейропептидов, выделяемых нейронами гипоталамических ядер (СМЯ, ПВЯ и СОЯ) на активность нейронов этого поля.

В связи с важной ролью поля СА2 в формировании ассоциаций объект–место, можно ожидать, что при повреждении нейронов этого поля будут наблюдаться неврологические нарушения. Действительно обнаружено, что при болезни Паркинсона, в особенности на поздних стадиях заболевания, атрофируется лимбическая система, включая поле СА2 гиппокампа, ЭК, лимбические ядра таламуса и ядра миндалины [95]. Эти структуры являются элементами сети, на нейронах которой формируются и сохраняются отображения ассоциаций объект–место. Полагают, что по атрофии клеток в поле СА2 можно дифференцировать различные нейродегенеративные стадии болезни Паркинсона [13]. Поздние стадии болезни Паркинсона могут совпадать с начинающейся болезнью Альцгеймера [95]. При болезни Альцгеймера в гиппокампе также наблюдается атрофия, особенно в полях СА2 и СА1 [96]. Полагают, что исследование изменений в поле СА2 при нейродегенеративных заболеваниях является особенно интересным в связи с важной ролью этого поля в когнитивной деятельности, особенно в социальной памяти [13]. Поскольку клетками-мишенями ПН поля СА2 являются нейроны поля СА1, было предположено, что нарушения контекстуальной памяти при болезнях Паркинсона и Альцгеймера

связаны с изменениями функционирования нейронов поля СА1 [97]. С точки зрения предлагаемого в настоящей работе механизма формирования ассоциаций объект–место, ослабление контекстуальной памяти на поздней стадии болезни Паркинсона и при болезни Альцгеймера в значительной степени может быть связано с тем, что атрофия ПН в поле СА2 препятствует формированию адекватных отображений ассоциаций объект–место как в этом поле, так и в поле СА1. Результаты настоящей работы могут быть полезны для понимания механизмов, лежащих в основе функционирования эмоциональной памяти в норме и при нейродегенеративных заболеваниях.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 19-515-52001/МНТ п.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karabulut S., Korkmaz Bayramov K., Bayramov R., Ozdemir F., Topaloglu T., Ergen E., Yazgan K., Taskiran A.S., Gogeli A. // *Behav. Brain Res.* 2019. V. 361. P. 7–13.
2. Boyce R., Williams S., Adamantidis A. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2017. V. 44. P. 167–177.
3. Ruskin D.N., Liu C., Dunn K.E., Bazan N.G., LaHoste G.J. // *Eur. J. Neurosci.* 2004. V. 19. № 11. P. 3121–3124.
4. Силькис И.Г. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2008. Т. 58. № 3. С. 261–275.
5. Силькис И.Г. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2008. Т. 58. № 5. С. 521–539.
6. Gottesmann C. // *Psychiatry. Clin. Neurosci.* 2002. V. 56. № 4. P. 345–354.
7. Hobson J.A., Stickgold R., Pace-Schott E.F. // *Neuroreport.* 1998. V. 9. № 3. P. R1–R14.
8. Силькис И.Г. // *Успехи физиол. наук.* 2002. Т. 33. № 1. С. 40–56.
9. Силькис И.Г. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2009. Т. 59. № 6. С. 645–661.
10. Силькис И.Г. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2011. Т. 61. № 1. С. 645–663.
11. Raam T., McAvoy K.M., Besnard A., Veenema A.H., Sahay A. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. № 1. P. 2001.
12. Masurkar A.V., Tian C., Warren R., Reyes I., Lowes D.C., Brann D.H., Siegelbaum S.A. // *J. Neurophysiol.* 2020. V. 123. № 3. P. 980–992.
13. Pang C.C., Kiecker C., O'Brien J.T., Noble W., Chang R.C. // *Neuroscientist.* 2019. V. 25. № 2. P. 167–180.
14. Young W.S., Li J., Wersinger S.R., Palkovits M. // *Neuroscience.* 2006. V. 143. № 4. P. 1031–1039.
15. Силькис И.Г. // *Журн. высш. нерв. деят.* 2021. Т. 71. № 2. P. 147–163.
16. Maejima Y., Takahashi S., Takasu K., Takenoshita S., Ueta Y., Shimomura K. // *Neuroreport.* 2017. V. 28. № 6. P. 360–366.
17. Piepenbrock N., Valatx J.L., Malquarti V., Jouvet M. // *Neurosci Lett.* 1985. V. 62. № 2. P. 151–156.
18. Coculescu M., Serbanescu A., Temeli E. // *Waking Sleeping.* 1979. V. 3. № 3. P. 273–277.
19. Billwiller F., Renouard L., Clement O., Fort P., Luppi P.H. // *Brain. Struct. Funct.* 2017. V. 222. № 3. P. 1495–1507.
20. Pedersen N.P., Ferrari L., Venner A., Wang J.L., Abbott S.B.G., Vujovic N., Arrigoni E., Saper C.B., Fuller P.M. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. № 1. P. 1405.
21. Soussi R., Zhang N., Tahtakran S., Houser C.R., Esclapez M. // *Eur. J. Neurosci.* 2010. V. 32. № 5. P. 771–785.
22. Hoover W.B., Vertes R.P. // *Brain Struct. Funct.* 2012. V. 217. № 2. P. 191–209.
23. Laroche S., Davis S., Jay T.M. // *Hippocampus.* 2000. V. 10. № 4. P. 438–446.
24. Dolleman-van der Weel M.J., Griffin A.L., Ito H.T., Shapiro M.L., Witter M.P., Vertes R.P., Allen T.A. // *Learn. Mem.* 2019. V. 26. № 7. P. 191–205.
25. Cassel J.-C., Pereira de Vasconcelos A. // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. V. 54. P. 175–196.
26. Aranda L., Santín L.J., Begega A., Aguirre J.A., Arias J.L. // *Behav. Brain Res.* 2006. V. 167. № 1. P. 156–164.
27. Cilz N.I., Cymerblit-Sabba A., Young W.S. // *Genes Brain Behav.* 2019. V. 18. № 1. P. e12535.
28. Piskorowski R.A., Chevaleyre V. // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2018. V. 52. P. 54–59.
29. Lin Y.T., Hsieh T.Y., Tsai T.C., Chen C.C., Huang C.C., Hsu K.S. // *J. Neurosci.* 2018. V. 38. № 5. P. 1218–1231.
30. Pagani J.H., Zhao M., Cui Z., Avram S.K., Caruana D.A., Dudek S.M., Young W.S. // *Mol. Psychiatry.* 2015. V. 20. № 4. P. 490–499.
31. Stevenson E.L., Caldwell H.K. // *Horm Behav.* 2012. V. 61. № 3. P. 277–282.
32. Cui Z., Gerfen C.R., Young W.S. 3rd. // *J. Comp. Neurol.* 2013. V. 521. № 8. P. 1844–1866.
33. Dudek S.M., Alexander G.M., Farris S. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2016. V. 17. № 2. P. 89–102.
34. Kohara K., Pignatelli M., Rivest A.J., Jung H.Y., Kitamura T., Suh J., Frank D., Kajikawa K., Mise N., Obata Y., Wickersham I.R., Tonegawa S. // *Nat. Neurosci.* 2014. V. 17. № 2. P. 269–279.
35. Shinohara Y., Hosoya A., Yahagi K., Ferecskó A.S., Yaguchi K., Sík A., Itakura M., Takahashi M., Hirase H. // *Eur. J. Neurosci.* 2012. V. 35. P. 702–710.
36. Lee S.H., Marchionni I., Bezaire M., Varga C., Danielson N., Lovett-Barron M., Losonczy A., Soltesz I. // *Neuron.* 2014. V. 82. № 5. P. 1129–1144.
37. Okuyama T., Kitamura T., Roy D.S., Itoharu S., Tonegawa S. // *Science.* 2016. V. 353. № 6307. P. 1536–1541.
38. Alexander G.M., Farris S., Pirone J.R., Zheng C., Colgin L.L., Dudek S.M. // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 10300.
39. Berretta S., Benes F.M. // *Nat. Protoc.* 2006. V. 1. № 2. P. 833–839.

40. *Smith D.A., Flynn J.P.* // Brain Res. 1980. V. 194. № 1. P. 41–51.
41. *Kafetzopoulos V., Kokras N., Sotiropoulos I., Oliveira J.F., Leite-Almeida H., Vasalou A., Sardinha V.M., Papadopoulou-Dajfoti Z., Almeida O.F.X., Antoniou K., Sousa N., Dalla C.* // Mol. Psychiatry. 2018. V. 23. № 3. P. 579–586.
42. *Hallock H.L., Wang A., Griffin A.L.* // J. Neurosci. 2016. V. 36. № 32. P. 8372–8389.
43. *Vu T., Gugustea R., Leung L.S.* // Brain Struct. Funct. 2020. V. 225. № 6. P. 1817–1838.
44. *Klein M.M., Cholvin T., Cosquer B., Salvadori A., Le Mero J., Kourouma L., Boutillier A.L., Pereira de Vasconcelos A., Cassel J.C.* // Brain Struct. Funct. 2019. V. 224. № 4. P. 1659–1676.
45. *Barker G.R., Warburton E.C.* // J. Neurosci. 2018. V. 38. № 13. P. 3208–3217.
46. *Barker G.R., Warburton E.C.* // Cereb. Cortex. 2015. V. 25. № 2. P. 472–481.
47. *Cholvin T., Hok V., Giorgi L., Chaillan F.A., Poucet B.* // J. Neurosci. 2018. V. 38. № 1. P. 158–172.
48. *Ito H.T., Moser E.I., Moser M.B.* // Neuron. 2018. V. 99. № 3. P. 576–587.e5.
49. *Luppi P.H., Fort P.* // Handb. Clin. Neurol. 2019. V. 160. P. 359–370.
50. *Steininger T.L., Alam M.N., Gong H., Szymusiak R., McGinty D.* // Brain Res. 1999. V. 840. № 1–2. P. 138–147.
51. *Vertes R.P., Crane A.M., Colom L.V., Bland B.H.* // J. Comp. Neurol. 1995. V. 359. № 1. P. 90–116.
52. *Luppi P.H., Billwiller F., Fort P.* // Curr. Opin. Neurobiol. 2017. V. 44. P. 59–64.
53. *Ravassard P., Hamieh A.M., Malleret G., Salin P.A.* // Neurobiol. Learn. Mem. 2015. V. 122. P. 4–10.
54. *Born J., Fehm H.L.* // Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1998. V. 106. № 3. P. 153–163.
55. *Billwiller F., Renouard L., Clement O., Fort P., Luppi P.H.* // Brain Struct. Funct. 2017. V. 222. № 3. P. 1495–1507.
56. *Pedersen N.P., Ferrari L., Venner A., Wang J.L., Abbott S.B.G., Vujovic N., Arrigoni E., Saper C.B., Fuller P.M.* // Nat. Commun. 2017. V. 8. № 1. P. 1405.
57. *Renouard L., Billwiller F., Ogawa K., Clément O., Camargo N., Abdelkarim M., Gay N., Scoté-Blachon C., Touré R., Libourel P.A., Ravassard P., Salvert D., Peyron C., Claustreat B., Léger L., Salin P., Malleret G., Fort P., Luppi P.H.* // Sci. Adv. 2015. V. 1. № 3. P. e1400177.
58. *Austin K.B., Bronzino J.D., Morgane P.J.* // Exp. Brain Res. 1989. V. 77. № 3. P. 594–604.
59. *Силькис И.Г., Маркевич В.А.* // Нейрохимия. 2020. Т. 37. № 4. С. 328–337.
60. *Born J., Kellner C., Uthgenannt D., Kern W., Fehm H.L.* // Am. J. Physiol. 1992. V. 262. № 3. Pt. 1. P. E295–E300.
61. *Perras B., Pannenburg H., Marshall L., Pietrowsky R., Born J., Lorenz Fehm H.* // J. Clin. Psychopharmacol. 1999. V. 19. № 1. P. 28–36.
62. *Brown M.H., Nunez A.A.* // Physiol. Behav. 1989. V. 46. № 4. P. 759–762.
63. *Schwartz M.D., Kilduff T.S.* // Psychiatr. Clin. North Am. 2015. V. 38. № 4. P. 615–644.
64. *Bertrand E., Lechowicz W., Lewandowska E., Szpak G.M., Dymecki J., Kosno-Kruszewska E., Wierzbza-Bobrowicz T.* // Folia Neuropathol. 2003. V. 41. № 4. P. 197–207.
65. *Sopp M.R., Michael T., Weeß H.G., Mecklinger A.* // Cogn. Affect. Behav. Neurosci. 2017. V. 17. № 6. P. 1186–1209.
66. *Wiesner C.D., Pulst J., Krause F., Elsner M., Baving L., Pedersen A., Prehn-Kristensen A., Göder R.* // Neurobiol. Learn. Mem. 2015. V. 122. P. 131–141.
67. *Nishida M., Pearsall J., Buckner R.L., Walker M.P.* // Cereb. Cortex. 2009. V. 19. № 5. P. 1158–1166.
68. *Cantero J.L., Atienza M., Stickgold R., Kahana M.J., Madsen J.R., Kocsis B.* // J. Neurosci. 2003. V. 23. № 34. P. 10897–10903.
69. *Boyce R., Glasgow S.D., Williams S., Adamantidis A.* // Science. 2016. V. 352. № 6287. P. 812–816.
70. *Guisse K.G., Shapiro M.L.* // Neuron. 2017. V. 94. № 1. P. 183–192.e8.
71. *Kim S.Y., Kark S.M., Daley R.T., Alger S.E., Rebouças D., Kensinger E.A., Payne J.D.* // Hippocampus. 2020. V. 30. № 8. P. 829–841.
72. *Mizuseki K., Diba K., Pastalkova E., Buzsáki G.* // Nat. Neurosci. 2011. V. 14. № 9. P. 1174–1181.
73. *Valero M., Cid. E., Averkin R.G., Aguilar J., Sanchez-Aguilera A., Viney T.J., Gomez-Dominguez D., Bellistri E., la Prida de L.M.* // Nat. Neurosci. 2015. V. 18. № 9. P. 1281–1290.
74. *Varela C.* // Front. Neural Circuits. 2014. V. 8. Article 69.
75. *Scarpelli S., D’Atri A., Gorgoni M., Ferrara M., De Gennaro L.* // Front. Psychol. 2015. V. 6. Article 605.
76. *Kubota Y., Takasu N.N., Horita S., Kondo M., Shimizu M., Okada T., Wakamura T., Toichi M.* // Brain Res. 2011. V. 1389. P. 83–92.
77. *McKenna J.T., Vertes R.P.* // J. Comp. Neurol. 2004. V. 480. № 2. P. 115–142.
78. *Van Dort C.J., Zachs D.P., Kenny J.D., Zheng S., Goldblum R.R., Gelwan N.A., Ramos D.M., Nolan M.A., Wang K., Weng F.-Ju., Lin Y., Wilson M.A., Brown E.N.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. № 2. P. 584–589.
79. *Goswamee P., McQuiston A.R.* // Front. Cell Neurosci. 2019. V. 13. Article 267.
80. *Varela C., Kumar S., Yang J.Y., Wilson M.A.* // Brain Struct. Funct. 2014. V. 219. № 3. P. 911–929.
81. *Lee S.H., Simons S.B., Heldt S.A., Zhao M., Schroeder J.P., Vellano C.P., Cowan D.P., Ramineni S., Yates C.K., Feng Y., Smith Y., Sweatt J.D., Weinshenker D., Ressler K.J., Dudek S.M., Hepler J.R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. № 39. P. 16994–16998.
82. *Lin Y.T., Hsieh T.Y., Tsai T.C., Chen C.C., Huang C.C., Hsu K.S.* // J. Neurosci. 2018. V. 38. № 5. P. 1218–1231.
83. *Karni A., Tanne D., Rubenstein B.S., Askenasy J.J., Sagi D.* // Science. 1994. V. 265. № 5172. P. 679–682.
84. *Plihal W., Born J.* // J. Cogn. Neurosci. 1997. V. 9. № 4. P. 534–547.
85. *Louie K., Wilson M.A.* // Neuron. 2001. V. 29. № 1. P. 145–156.
86. *Kudrimoti H.S., Barnes C.A., McNaughton B.L.* // J. Neurosci. 1999. V. 19. № 10. P. 4090–4101.

87. Abel T., Havekes R., Saletin J.M., Walker M.P. // *Curr. Biol.* 2013. V. 23. № 17. P. R774–788.
88. Senzai Y., Buzsáki G. // *Neuron*. 2017. V. 93. № 3. P. 691–704.
89. Guzman-Marin R., Suntsova N., Bashir T., Nienhuis R., Szymusiak R., McGinty D. // *Sleep*. 2008. V. 31. № 2. P. 167–175.
90. López-Virgen V., Zárate-López D., Adirsch F.L., Collas-Aguilar J., González-Pérez Ó. // *Gac. Med. Mex.* 2015. V. 151. № 1. P. 99–104.
91. Mueller A.D., Meerlo P., McGinty D., Mistlberger R.E. // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2015. V. 25. P. 151–181.
92. Kempermann G., Song H., Gage F.H. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015. V. 7. № 9. P. a018812.
93. Parent J.M., Yu T.W., Leibowitz R.T., Geschwind D.H., Sloviter R.S., Lowenstein D.H. // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. № 10. P. 3727–3738.
94. Sawangjit A., Kelemen E., Born J., Inostroza M. // *Front. Behav. Neurosci.* 2017. V. 11. Article 28.
95. Braak H, Braak E., Yilmazer D., de Vos R.A., Jansen E.N., Bohl J. // *J. Neural Transm. (Vienna)*. 1996. V. 103. № 4. P. 455–490.
96. Tang X., Qin Y., Wu J., Zhang M., Zhu W., Miller M.I. // *Magn. Reson. Imaging*. 2016. V. 34. № 8. P. 1087–1099.
97. Adamowicz D.H., Roy S., Salmon D.P., Galasko D.R., Hansen L.A., Masliah E., Gage F.H. // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 7. P. 1675–1684.

A Role of the Hypothalamus in the Formation of Neural Representations of Object–Place Associations in the Hippocampus during Wakefulness and Paradoxical Sleep

I. G. Silkis

*Institute of Higher Nervous Activity
and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

A comparative analysis of the features of formation of neural representations of object–place associations in the hippocampus in states of wakefulness and paradoxical sleep was performed. The activity of hippocampal neurons is affected by the supramammillary, paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. In the wake state, when signals pass from the dentate gyrus through the CA3 field to the CA1 field, sequentially more complex representations of object–place associations are formed on neurons of these areas. Inputs from the supramammillary nucleus to the dentate gyrus and CA2 field, as well as inputs to the CA2 field from the paraventricular and supraoptic hypothalamic nuclei, whose neurons secrete vasopressin and oxytocin, facilitate signal transmission into the CA1 field by promoting LTP of the efficacy of CA3–CA2 and CA2–CA1 connections and summation of excitation from the CA3 and CA2 fields on those neurons of the CA1 field that are connected with the prefrontal cortex. Information about odors entering to the CA2 field from the olfactory bulb through the paraventricular and supraoptic nuclei is embedded into the representations of object–place associations. In paradoxical sleep, when the transmission of signals along the pathway dentate gyrus–CA3–CA1 is suppressed, inputs from the hypothalamic nuclei facilitate LTP in each step of the pathway dentate gyrus–CA2–CA1. As a result, during paradoxical sleep, the conditions are facilitated for the formation of new representations of object–place associations on the CA2 pyramidal neurons and their target cells in the CA1 field connected with the amygdala. It follows from performed analysis that neural representations of object–place associations formed on the hippocampal neurons during paradoxical sleep are different from those formed in the wake state.

Keywords: hypothalamic nuclei, hippocampus, synaptic plasticity, object–place associations, paradoxical sleep

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
РАБОТЫ

УДК 612.8.04

ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА
ЦНС ПОЛОВОЗРЕЛЫХ САМЦОВ КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ПРЕНАТАЛЬНОГО СТРЕССА

© 2021 г. О. Н. Кулешова^{1, *}, Д. Л. Теплый¹, Д. Д. Теплый¹, А. С. Семенова²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
“Воронежский государственный университет”, Воронеж, Россия

Поступила в редакцию 04.11.2020 г.

После доработки 19.12.2020 г.

Принята к публикации 22.01.2021 г.

В условиях пренатального периода при активной дифференциации клеток повышение уровня АФК приводит к формированию тератогенных эффектов, дозозависимого характера. Целью данного исследования стало определение связи продолжительности стресса, перенесенного беременными самками крыс на третьем триместре, со степенью сдвига свободно радикального гомеостаза в плазме крови и на разных уровнях ЦНС. Изучали изменения уровня активности супероксиддисмутаза, продуктов перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в гомогенатах коры больших полушарий, гипоталамуса, мозжечка и спинного мозга пренатальнострессированных половозрелых самцов беспородных белых крыс. Для этого их матери с 16 по 19 дни беременности ежедневно подвергались иммобилизационному стрессу в пластиковых пеналах в течение одного и трех часов. Самки контрольных групп содержались в стандартных условиях вивария в свободном доступе к пище и воде. Пренатальный стресс оказал влияние на свободно-радикальный гомеостаз всех изученных отделов ЦНС 90-дневных самцов крыс. Более значительные эффекты были отмечены после 3-часовой иммобилизации. Потомки стрессированных матерей характеризовались более выраженными сдвигами свободнорадикального баланса. Вследствие односторонней ежедневной иммобилизации с 16 по 19 дни беременности у половозрелых потомков стрессированных матерей отмечено увеличение показателей окислительной модификации белковых и липидных компонентов, в то время, как для последствий трехчасовой пренатальной иммобилизации характерно, напротив, снижение изучаемых показателей продуктов свободнорадикального окисления и повышение активности СОД. Вне зависимости от длительности экспозиции наиболее выраженные сдвиги изучаемых параметров СР гомеостаза были характерны для гипоталамической области.

Ключевые слова: пренатальный стресс, ЦНС, окислительная модификация белков, свободнорадикальный гомеостаз, перекисное окисление липидов, супероксиддисмутаза, α -токоферола-ацетат, иммобилизация, половозрелые самцы крыс

DOI: 10.31857/S1027813321020096

К настоящему времени разнообразные исследования создали убедительную концепцию “пренатального программирования” – идею о том, что изменения условий развития на ранних этапах формирования может подготовить почву для хронических заболеваний в период постнатального онтогенеза [1]. Со временем эта концепция стала рассматриваться как “программирование развития” [2].

Основным источником патогенных влияний рассматривают стрессы различной природы, пе-

ренесенные в ранний период развития. Они “программируют” развитие мозга и приводят к долгосрочным морфо-физиологическим изменениям ЦНС и организации поведения [3]. Одним из механизмов такого “программирования” является рост окислительного стресса еще в плаценте [4]. Чрезмерная продукция АФК в плаценте приводит к повреждению ДНК, денатурации белков и перекисному окислению липидов, что может изменять функцию плаценты, приводя к снижению содержания кислорода и питательных веществ у плода [5]. Повышенная продукция АФК и окислительный стресс во время органогенеза, когда клетки продолжают активно дифференци-

* Адресат для корреспонденции: 414000 Россия, Астрахань, пл. Шаумяна, 1, e-mail: pozdniakova_olga@list.ru.

роваться, действуют как тератогенные агенты, вызывая структурные аномалии, потерю клеточной функции или самопроизвольный аборт развивающегося плода [6]. Как и у большинства тератогенных агентов, эффекты от стресса могут быть дозозависимыми. Можно предположить, что оказываемые эффекты будут изменяться не только в зависимости от интенсивности, но и от продолжительности стресса.

Корреляция между внутриутробным стрессом и негативными последствиями у потомства была продемонстрирована при заболеваниях, опосредованных свободными радикалами [7]. Окислительно-восстановительные процессы определяют практически все фундаментальные процессы жизни – от биоэнергетики до метаболизма и жизненных функций [8], многообразны и организованы в соответствии с принципами редокс-кода. Таким образом, уровень эффектов “пренатального программирования” можно оценивать по степени сдвигов свободно-радикального гомеостаза. Окислительный стресс является основным фактором, вызывающим нарушения и гибель нейрональных клеток в еще незрелом мозге [9] и может быть главной причиной неврологических нарушений [10].

Таким образом, целью данного исследования стало определение связи продолжительности стресса, перенесенного беременными самками крыс на третьем триместре, со степенью сдвига свободно-радикального гомеостаза в плазме крови и на разных уровнях ЦНС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент был разделен на 2 серии, в обеих сериях эксперимента участвовали по 10 первородящих самок беспородных белых крыс в возрасте 6–8 месяцев и их потомство в возрасте 90 дней (84 животных). У самок определяли стадии эстрального цикла стандартным методом взятия и анализа влагалищного мазка [11]. При обнаружении эструса или проэструса к самке подсаживали самца и первым днем беременности считали день обнаружения в мазке сперматозоидов. В первую серию самки со средней массой тела 221 ± 4.32 г с 16 по 19 дни беременности подвергались иммобилизационному стрессу в пластиковых пеналах на протяжении одного часа, во вторую серию самки со средней массой 234 ± 7.34 г – на протяжении трех часов. Животные контрольных групп не подвергались негативным воздействиям, содержались в клетках по 6 особей, в свободном доступе к пище и воде, до возраста 90 дней. На 90-ый день постнатального онтогенеза половозрелых пренатально стрессированных самцов и самцов контрольных групп наркотизировали этиминалом натрия и декапитировали. Головной и спинной мозг выделяли на холоде, готовили 10% гомогенаты

на 0.1 М фосфатном буфере, кровь собирали в гепаринизированные пробирки и центрифугировали при 3000 об./мин, после чего отбирали плазму для дальнейшего изучения. Изменение свободнорадикального гомеостаза оценивали в плазме и гомогенатах ткани коры больших полушарий, гипоталамуса и спинного мозга. Все методики по изучению свободнорадикального гомеостаза были проведены не позднее 2 нед. с момента выделения ткани и приготовления гомогенатов, изучаемый материал хранили при температуре -20°C в присутствии ЭДТА.

Свободнорадикальный гомеостаз оценивали по уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [12], уровню продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) [13] определяли на стадии инициации (270 нм) и элонгации (363 нм) [14]. Уровень антиокислительной активности – по уровню активности супероксиддисмутазы (СОД) [15]. Перерасчет уровня активности СОД и степени ОМБ производили из расчета на грамм белка, который определяли по методу Лоури. Пробы спектрофотометрировали на Цифровом UV-спектрофотометре PD-303UV (Arel, Япония). Статистическая обработка полученных результатов производилась с применением U непараметрического критерия Манна–Уитни, достоверность оценивали по таблице критических значений для уровней статистической значимости $p < 0.05$, $p < 0.01$, Гублера и Генкина (1973). Данные представлены в виде среднего \pm стандартная ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Одночасовая пренатальная иммобилизация в период третьего триместра вызвала изменения СР гомеостаза у взрослых половозрелых животных (табл. 1). Уровень промежуточных продуктов ПОЛ увеличился в ткани спинного мозга ($p < 0.01$; $p < 0.05$, диеновые конъюгаты, кетодиены и сопряженные триены соответственно), коры больших полушарий ($p < 0.01$) и гипоталамуса ($p < 0.01$), так же как и уровень продуктов ОМБ в коре больших полушарий ($p < 0.01$) и гипоталамуса ($p < 0.01$). В ткани коры больших полушарий и гипоталамуса уровень оснований Шиффа оказался ниже контрольной группы, $p < 0.05$ и $p < 0.01$ соответственно. На активности СОД одночасовая пренатальная иммобилизация повлияла только в ткани гипоталамической области, заметно уменьшив ее активность ($p < 0.05$).

По сравнению с одночасовой иммобилизацией в пренатальный период, трехчасовая привела к более значительным изменениям свободнорадикального гомеостаза (табл. 2). Уменьшился уровень ПП ПОЛ во всех рассматриваемых отделах ЦНС, и уровень оснований Шиффа в гипоталамусе ($p < 0.05$). В плазме уровень продуктов Шиффа увеличился по сравнению с контрольной группой

Таблица 1. Свободнорадикальный гомеостаз у пренатально стрессированных (1 ч) половозрелых самцов крыс

Ткань	Группы	Активность СОД, у.е./мг белка × мин	СРО белков, нмоль/мг белка		ПОЛ, у.е., индекс окисления		
			инициация, 270 нм	элонгация, 370 нм	диеновые конъюгаты	кетодиены и сопряженные триены	основания Шиффа
Плазма	Контроль, n = 11	0.035 ± 0.0048	0.52 ± 0.031	1.84 ± 0.141	0.45 ± 0.048	0.38 ± 0.049	0.009 ± 0.0005
	Стресс, n = 11	0.037 ± 0.0032	0.67 ± 0.052	2.45 ± 0.467	0.36 ± 0.025	0.26 ± 0.006	0.009 ± 0.0009
Кора больших полушарий	Контроль, n = 10	0.42 ± 0.044	1.629 ± 0.233	0.677 ± 0.071	0.58 ± 0.028	0.21 ± 0.020	0.086 ± 0.003
	Стресс, n = 8	0.44 ± 0.065	2.542 ± 0.766	1.603 ± 0.302##	0.76 ± 0.064##	0.26 ± 0.082	0.019 ± 0.003#
Гипоталамус	Контроль, n = 9	0.22 ± 0.011	0.43 ± 0.055	0.45 ± 0.069	0.60 ± 0.020	0.24 ± 0.004	0.032 ± 0.003
	Стресс, n = 10	0.19 ± 0.007#	1.557 ± 0.347##	0.80 ± 0.157	0.62 ± 0.012	0.26 ± 0.002##	0.022 ± 0.001##
Спинной мозг	Контроль, n = 9	0.20 ± 0.015	1.27 ± 0.178	0.60 ± 0.071	0.37 ± 0.024	0.12 ± 0.022	0.017 ± 0.0034
	Стресс, n = 8	0.22 ± 0.026	1.03 ± 0.178	0.61 ± 0.116	0.46 ± 0.016##	0.19 ± 0.016#	0.031 ± 0.0096

Примечания: достоверные различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна–Уитни) обозначены для уровней статистической значимости # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$; между опытными группами и группой стресса * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (по Гублеру и Генкину, 1973).

пой ($p < 0.01$). Уровень продуктов ОМБ на стадии инициации увеличился в гипоталамусе ($p < 0.05$) и спинном мозге ($p < 0.01$), уровень продуктов, характерных для стадии элонгации, увеличился в плазме ($p < 0.05$) и ткани спинного мозга ($p < 0.01$) и уменьшился в коре больших полушарий ($p < 0.01$) и гипоталамусе ($p < 0.01$). Изменение активности СОД имело тканеспецифические особенности: отмечено уменьшение ее активности в плазме крови ($p < 0.01$) и увеличение во всех изучаемых отделах ЦНС ($p < 0.01$).

ОБСУЖДЕНИЕ

АФК играют ключевую физиологическую роль в формировании плода, включая биосинтез стероидов яичников, созревание яйцеклеток, овуляцию, образование бластоцист, оплодотворение, имплантацию, лютеолиз и поддержание лютеиновой активности [16]. АФК вовлечены в пролиферацию и дифференцировку трофобластов, а также в модуляцию сосудистых реакций плаценты [17]. Повышение их уровня приводит к функциональным изменениям плаценты, повреждению ДНК и белков, перекисному окислению липидов, и, как следствие, происходит снижение содержания кислорода и питательных веществ у плода [18]. В современных обзорах публикациях отмечаются значительные вариации последствий перенесенного стресса в зависимости от его продолжительности, вида и периода, в течение которого он возникает, при этом подчеркивается общая за-

кономерность: более длительное время воздействия кортикостероидов приводит к более выраженным негативным последствиям для ЦНС [19]. Вероятно, более продолжительное (трехчасовое) воздействие в пренатальный период привело к более существенным сдвигам свободнорадикального гомеостаза во всех изучаемых отделах ЦНС и в изменении свободнорадикального баланса в плазме крови, что не было отмечено при одночасовой пренатальной иммобилизации.

Нами так же были обнаружены некоторые особенности изменения свободнорадикального гомеостаза, связанные с 1-часовой и 3-часовой стресс-экспозицией в пренатальном периоде. Вследствие одночасовой ежедневной иммобилизации с 16 по 19 дни беременности у половозрелых потомков стрессированных матерей было отмечено преимущественно увеличение показателей СРО белковых и липидных компонентов, в то время, как для последствий трехчасовой иммобилизации характерно снижение уровня продуктов ПОЛ, рост уровня активности СОД и продуктов СРО белков. Подобная динамика могла быть связана с адаптацией к периодически повторяющемуся стрессу и подчинена закону обратной связи.

Вне зависимости от длительности ежедневной пренатальной иммобилизации на третьем триместре наиболее значительные изменения СР гомеостаза отмечены в гипоталамусе половозрелых потомков. Выбранный период стресса с 16 по 19 дни беременности характеризуется как период интеграции всех звеньев нейроэндокринной системы.

Таблица 2. Свободнорадикальный гомеостаз у пренатально стрессированных (3 ч) половозрелых самцов крыс

Ткань	Группа	Активность СОД, у.е. / мг белка мин	СРО белков, нмоль/мг белка		ПОЛ, у.е., индекс окисления		
			инициация, 270 нм	элонгация, 370 нм	диеновые конъюгаты	кетодиены и сопряженные триены	основания Шиффа
Плазма	Контроль, n = 11	0.058 ± 0.0056	1.32 ± 0.122	0.20 ± 0.020	0.39 ± 0.019	0.27 ± 0.034	0.05 ± 0.008
	Стресс, n = 11	0.051 ± 0.0042	1.07 ± 0.083	0.29 ± 0.035#	0.34 ± 0.014	0.28 ± 0.039	0.08 ± 0.011##
Кора больших полушарий	Контроль, n = 10	1.09 ± 0.053	4.38 ± 0.394	2.89 ± 0.274	0.60 ± 0.015	0.25 ± 0.006	0.018 ± 0.001
	Стресс, n = 8	4.23 ± 0.424##	6.06 ± 2.120	0.76 ± 0.148##	0.58 ± 0.009	0.23 ± 0.003#	0.016 ± 0.001
Гипоталамус	Контроль, n = 11	1.07 ± 0.166	2.27 ± 0.463	1.99 ± 0.313	0.59 ± 0.009	0.25 ± 0.026	0.04 ± 0.011
	Стресс, n = 7	3.47 ± 0.394##	3.12 ± 0.423#	0.47 ± 0.070##	0.56 ± 0.011##	0.22 ± 0.006#	0.016 ± 0.0016#
Спинной мозг	Контроль, n = 9	0.49 ± 0.083	0.83 ± 0.14	0.64 ± 0.04	0.114 ± 0.0067	0.099 ± 0.0157	0.017 ± 0.0021
	Стресс, n = 8	2.47 ± 0.268##	31.44 ± 2.14##	2.69 ± 0.3##	0.063 ± 0.0139##	0.050 ± 0.0083##	0.013 ± 0.0023

Примечания: достоверные различия между контрольными и опытными животными (критерий Манна–Уитни) обозначены для уровней статистической значимости # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$; между опытными группами и группой стресса * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (по Гублеру и Генкину, 1973).

Изменение нейроэндокринной регуляции приспособительного поведения после стресса в позднем пренатальном онтогенезе [20]. Известно, что повышение уровня гормонов стресса матери может приводить к различным эффектам в зависимости от стадии развития плода, вызывая значительные изменения в критический период формирования органа, а за пределами критического периода оказывая ограниченное воздействие даже при значительных концентрациях [21]. Таким образом, выявленная особенность может быть связана с периодом воздействия материнского стресса. Подобная выраженная реакция со стороны гипоталамуса отмечается и другими авторами [22], и связывают эти эффекты с мультиструктурностью и полифункциональностью изучаемого отдела и большей включенностью его в формирование и реализацию стресс-реакции.

Свободнорадикальный статус в ткани спинного мозга зависел от продолжительности пренатального воздействия: 3-часовой стресс привел к более существенным сдвигам окислительного гомеостаза ткани (увеличилась активность СОД и уровень продуктов СРО белков, уменьшилось содержание ПП ПОЛ), в то время, как после 1-часового пренатального стресса был отмечен только рост уровня ПП ПОЛ. Таким образом, увеличение длительности пренатального стресса до 3-х часов проявилось не только в изменении уровня окисления липидов, но и белковых компонентов ткани, а также, вероятно, в компенсаторном сдвиге активности СОД. Такая реакция может

быть связана как с особенностями созревания этого уровня ЦНС, процессы нейрогенеза в котором начинаются на более ранних этапах пренатального онтогенеза и заканчивается к 16-ому дню пренатального развития [23], так и с большей устойчивостью ткани, как филогенетически более древней структуры.

Менее выраженная реакция на пренатальный стресс вне зависимости от продолжительности стресса отмечена со стороны коры больших полушарий, такие реакции отмечали и другие авторы, делая акцент на то, что значительный вклад в устойчивость свободнорадикального гомеостаза коры головного мозга вносит нейроглия [14].

Таким образом, пренатальный стресс оказал влияние на свободнорадикальный гомеостаз всех отделов ЦНС, при более значительном влиянии после перенесенной 3-часовой иммобилизации на 3 триместре. Потомки этих матерей, характеризовались более выраженными сдвигами СР баланса. Наблюдаемые сдвиги имели характерные особенности в зависимости от длительности стресса: вследствие одночасовой ежедневной иммобилизации с 16 по 19 дни беременности у половозрелых потомков стрессированных матерей отмечено преимущественно увеличение показателей СРО белковых и липидных компонентов, в то время, как для последствий трехчасовой иммобилизации характерно, напротив, преимущественно снижение изучаемых показателей СРО и повышение активности СОД. Вне зависимости от длительности экспозиции наиболее вы-

раженные сдвиги изучаемых параметров СР гомеостаза были характерны для гипоталамуса.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Barker D.J.* // J. Am. Coll. 2004. V. 23. P. 588–595.
2. *McCarty R.* // Neurosci. Biobehav. 2017. V. 73. P. 219–254.
3. *Depino A.M.* // Semin. Cell Dev. Biol. 2018. V. 77. P. 104–114.
4. *Silvestro S, Calcaterra V, Pelizzo G, Bramanti P, Mazon E.* // Antioxidants (Basel). 2020. V. 9(5). P. 414.
5. *Fisher J.J., Bartho L.A., Perkins A.V.* // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2020. V. 47. P. 176–184.
6. *Laforgia N., Di Mauro A., Guarnieri G.F., Varvara D., De Cosmo L., Panza R., Capozza M., Baldassarre M.E., Resta N.* // Oxidative Med. Cell. Longev. 2018. P. 1–12.
7. *Perrone S., Santacroce A., Picardi A., Buonocore G.* // World J. Clin. Pediatrics. 2016. V. 5. P. 172.
8. *Sies H., Berndt C., Jones D.P.* // Annual Review of Biochemistry. 2017. V. 86(1). P. 715–748.
9. *Buonocore G., Perrone S., Muraca M.* // Ann. Dell'istituto Super. Di Sanita. 2001. V. 37. P. 527–535.
10. *Baud O., Daire J.L., Dalmaç Y., Fontaine R.H., Krueger R.C., Sebag G., Evrard P., Gressens P., Verney C.* // Brain Pathol. 2004. V. 14. P. 1–10.
11. *Владимирская Т.Э., Швед И.А., Криворот С.Г., Веякина Н.Н., Адамович А.В.* // Вести национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. 2011. № 4. С. 88–91.
12. *Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И.* // Вопр. мед. химии. 1989. Т. 35. № 3. С. 127–131.
13. *Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А. и др.* // Вопр. мед. химии. 1999. Т. 45. № 1. С. 47–54.
14. *Флеров М.А., Герасимова И.А., Вьюшина А.В., Притворова А.В.* // Российский физиологический журн. им. Сеченова. 2008. Т. 94. № 4. С. 406–413.
15. *Сирота Т.В.* // Биомедицинская химия. 2013. Т. 59. № 4. С. 399–410.
16. *Lu J., Wang Z., Cao J., Chen Y., Dong Y.* // Reprod. Biol. Endocrinol. 2018. V. 16. P. 80.
17. *Herrera E.A., Krause B., Ebensperger G., Reyes R.V., Casanello P., Parra-Cordero M., Llanos A.J.* // Front. Pharmacol. 2014. V. 5. P. 149.
18. *Fisher J.J., Bartho L.A., Perkins A.V.* // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2020. V. 47. P. 176–184.
19. *Miao Z., Wang Y., Sun Z.* // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21(4). P. 1375.
20. *Шалапина В.Г., Зайченко И.Н., Батуев А.С., Ордян Н.Э.* // Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87. № 9. С. 1193–1201.
21. *Auyeung B., Lombardo M.V., Baron-Cohen S.* // Pflugers Archiv. European J. Physiology. 2013. V. 465. P. 557–571.
22. *Вьюшина А.В., Притворова А.В., Семенова О.Г., Флеров М.А., Ордян Н.Э.* // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2019. Т. 82. № 10. С. 13–18.
23. *Суханова Ю.А., Себенцова Е.А., Левицкая Н.Г.* // Нейрохимия. 2016. Т. 33. № 4. С. 276–292.

Features of Free Radical Homeostasis of the Central Nervous System of Mature Male Rats Depending on the Duration of Prenatal Stress

O. N. Kuleshova^a, D. L. Teply^a, D. D. Teply^a, and A. S. Semenova^b

^aAstrakhan State University, Astrakhan, Russia

^bVoronezh State University, Voronezh, Russian

Was studied changes in the level of activity of superoxide dismutase, lipid peroxidation products, and oxidative modification of proteins in the homogenates of the cerebral cortex, hypothalamus, cerebellum, and spinal cord of prenatally-stressed mature male mongrel white rats. To do this, their mothers were subjected to daily immobilization stress in plastic pencil cases for one and three hours from days 16 to 19 of pregnancy. Females of the control groups were kept in standard conditions with free access to food and water. Prenatal stress affected the free radical homeostasis of all the studied CNS regions in 90-day-old male rats. More significant effects were observed after 3 hours of immobilization. Descendants of stressed mothers were characterized by more pronounced shifts in free radical balance. As a result of one-hour daily immobilization from 16 to 19 days of pregnancy, sexually mature descendants of stressed mothers showed an increase in the indicators of oxidative modification of protein and lipid components, while the consequences of three-hour prenatal immobilization are characterized, on the contrary, by a decrease in the studied indicators of free radical oxidation products and an increase in SOD activity. Regardless of the duration of exposure, the most pronounced shifts in the studied parameters of CP homeostasis were characteristic of the hypothalamic region.

Keywords: prenatal stress, CNS, oxidative modification of proteins, free radical homeostasis, lipid peroxidation, superoxide dismutase, α -tocopherol-acetate, immobilization, mature male rats

НЕЙРОПЛАСТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПОСЛЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В НЕОКОРТЕКСЕ: ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВАЯ СИСТЕМА И СИСТЕМА НЕЙРОТРОФИНОВ

© 2021 г. М. В. Онуфриев¹, *, Ю. В. Моисеева¹, М. Н. Волобуева¹,
А. А. Квичанский¹, Л. В. Третьякова¹, Н. В. Гуляева¹

¹Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

Поступила в редакцию 05.01.2020 г.

После доработки 20.01.2021 г.

Принята к публикации 21.01.2021 г.

Окклюзия средней мозговой артерии (ОСМА) является причиной большинства ишемических инсультов, в результате которой развивается фокальное поражение мозга, затрагивающее не только различные области коры больших полушарий, но регионы мозга, которые располагаются за пределами области инфаркта, в том числе и гиппокамп. Активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), приводящая к повышению циркулирующего уровня глюкокортикоидов, является одной из первых реакций организма на церебральный инсульт. Баланс между степенью активации ГГНС и нейропротекторным потенциалом системы нейротрофинов может предопределять интенсивность повреждения гиппокампа, как региона мозга, экспрессирующего высокий уровень кортикостероидных рецепторов. В настоящей работе исследована динамика изменения уровня кортикостерона, BDNF и NGF в крови и регионах гиппокампа крыс после транзиторной ОСМА. Повышение уровня кортикостерона в крови, происходило на ранних сроках после ОСМА и сопровождалось появлением стресс-гормона в дорсальном гиппокампе (ДГ) ишемического полушария. В отличие от неизменившегося уровня циркулирующего BDNF, экспрессия белка данного нейротрофина увеличилась на ранних сроках реперфузии в ДГ и вентральном гиппокампе (ВГ), тогда как уровень NGF повысился в крови и в дальнейшем только в ДГ. Таким образом, ишемический инсульт в неокортексе индуцировал активацию ГГНС, аккумуляцию кортикостерона и повышение экспрессии белка BDNF в большей степени, чем NGF, в регионах ипсилатерального гиппокампа на ранних сроках после ОСМА.

Ключевые слова: ишемический инсульт, гиппокамп, кортикостерон, нейротрофины

DOI: 10.31857/S1027813321020126

ВВЕДЕНИЕ

Инсульт – тяжелая неврологическая патология, которая характеризуется высокой смертностью, развитием постинсультного неврологического дефицита и когнитивных нарушений. Повреждение после инсульта не ограничивается только областью инфаркта, но также распространяется в неишемические регионы мозга, вызывая их вторичное повреждение. Так, после фокального повреждения неокортекса и/или стриатума вторичные изменения наблюдаются в таламусе, черной субстанции, гиппокампе и спинном мозге [1–3].

Активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) является одним из первых физиологических ответов на церебральную

ишемию, происходит в первые часы после ишемии и приводит к длительному повышению в крови концентрации глюкокортикоидов [4–6]. Показано, что как высокий, так и низкий уровень кортизола в крови усиливает риск смерти в течение 28 дней от наступления инсульта [7]. Предполагают, что дисбаланс между центральными кортикостероидными рецепторами лежит в основе дисрегуляции ГГНС и предрасположенности к стресс-индуцированным психиатрическим заболеваниям, в том числе и депрессии [8]. Модуляция активности ГГНС отчасти осуществляется гиппокампом [9], в том числе и за счет минерало- и глюкокортикоидных рецепторов (MR и GR), высокий уровень экспрессии которых наблюдается в полях CA1, CA2, CA3 и зубчатой извилине [10]. Известно, что гиппокамп неоднородная структура и в септо-темпоральном направлении выделяют дорсаль-

* Адресат для корреспонденции: 117485 Россия, Москва, ул. Бутлерова, 5а; e-mail: mikeonuf1@mail.ru.

ную, промежуточную и вентральную части. Более того, дорсальный (ДГ) и вентральный гиппокамп (ВГ) выполняют различные функции, причем первый преимущественно связан с когнитивными функциями, а второй с реакциями на стресс и эмоциями [11, 12].

В различных исследованиях показано, что нейротрофины принимают участие в структурном и функциональном восстановлении нервной ткани после ишемического повреждения [13, 14]. Хорошо известно, что связывание зрелых форм нейротрофинов, в частности, BDNF и NGF, с соответствующими высокоаффинными тирозин-киназными рецепторами (mNGF-TrkA; mBDNF-TrkB) необходимо для нейротрофики, дифференцировки клеток и образования синапсов [15, 16]. Однако проформы BDNF и NGF, взаимодействуя с низкоаффинными рецепторами p75NTR, участвуют в регуляции роста нейритов, гибели клеток во время развития ЦНС и при патологических состояниях [17]. Известно, что активация ГГНС и повышение уровня глюкокортикоидов при стрессе приводит к снижению экспрессии нейротрофинов в гиппокампе [18, 19], но этот эффект зависит от интенсивности и продолжительности стресса [20]. С другой стороны, однократная инъекция синтетического глюкокортикоида дексаметазона ни только не влияет на содержание и секрецию BDNF, NGF, NT3 в коре и гиппокампе, а также в кортикальных и гиппокампальных культурах клеток, но и вызывает активацию Trk рецепторов, усиливая степень их фосфорилирования [21].

В связи с вышеизложенным цель данного исследования заключалась в выявлении связи между активацией ГГНС, которую характеризует уровень стресс-гормона кортикостерона, и содержанием нейротрофинов в регионах гиппокампа в динамике на ранних и отдаленных сроках после инсульта.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Самцы крыс линии Вистар были получены из Филиала “Столбовая” Федерального государственного бюджетного учреждения науки “Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства” (Московская обл., РФ) и размещены в клетках вивария.

Модель ишемического инсульта. Ишемический инсульт создавали посредством окклюзии средней мозговой артерии [22]. Наркотизацию крыс линии Вистар весом 200–300 г осуществляли с помощью ингаляционного наркоза (изофлуран). Через левую внешнюю сонную артерию вводили филамент, продвигая его через внутреннюю сонную артерию до пересечения со средней мозговой артерией. Длительность окклюзии составляла

60 мин, при этом температуру тела крысы поддерживали в интервале $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. По окончании окклюзии филамент извлекали и восстанавливали кровотоки по ипсилатеральной общей сонной артерии, которую освобождали от лигатуры после извлечения филамента. У ложнооперированных крыс проделывали все этапы операции кроме введения филамента. Число крыс в каждой группе составляло 6–8 животных на каждую временную точку.

Оценка неврологического дефицита. 1. 5-Балльная шкала. Тест основан на 5-балльной поведенческой шкале [23] и позволяет оценить функциональное состояние контралатеральной передней лапы крыс, наличие поворотов и циркуляции в контралатеральную сторону, а также подвижность животных. 2. Тест на степень высывания языка. Данный показатель определяли по способности крысы вылизывать арахисовое масло из стеклянного цилиндра с последующим измерением расстояния от начала цилиндра до уровня оставшегося масла [24].

Подготовка биологического материала. На 1, 3, 7 и 14 сутки после ОСМА крысы были выведены из эксперимента. После декапитации животных был получен следующий биологический материал: кровь (сыворотка), дорсальная и вентральная части гиппокампа ипсилатерального полушария. Образцы гиппокампа гомогенизировали и после центрифугирования была получена растворимая фракция белков (супернатант), которую алиquotировали и хранили при -80°C до проведения биохимических исследований.

Определение кортикостерона. Для определения уровня кортикостерона в сыворотке крови и супернатантах гиппокампа использовали наборы для иммуноферментного анализа (DRG, Германия), с помощью которых детектировали как свободный, так и связанный с транспортными белками кортикостерон методом конкурентного ИФА.

Определение нейротрофинов. В крови и супернатантах гиппокампа общий уровень зрелых и проформ BDNF и NGF определяли с использованием наборов для ИФА (R&D Systems, USA) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 10. После определения нормальности распределения данных динамику уровня кортикостерона и нейротрофинов оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим Fisher post-hoc тестом. Использовали влияние факторов “группа” и “время”. Данные представлены в виде $M \pm SEM$. Различия считали достоверными при $p < 0.05$.

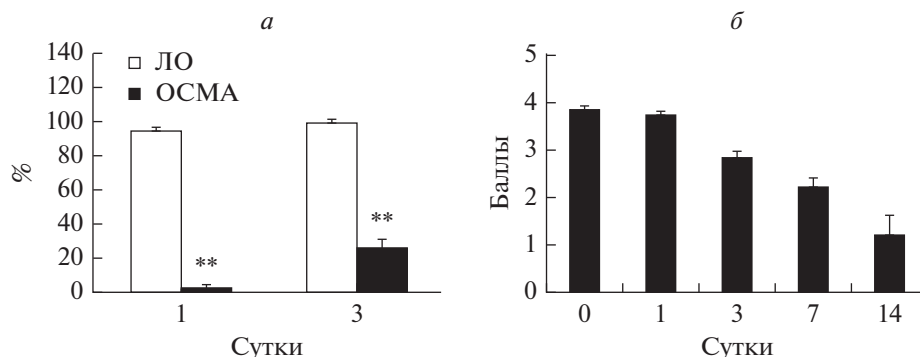


Рис. 1. Динамика изменения неврологического дефицита в тесте с арахисовым маслом (а) и по 5-балльной шкале (б). ** $p < 0.01$ – отличия от группы ЛО.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате ОСМА развивался неврологический дефицит у крыс и статистически значимое снижение степени вытягивания языка наблюдалось на 1 и 3 сутки, что составляло от уровня до операции $2.86 \pm 1.33\%$ на 1 сут и $26.70 \pm 4.59\%$ на 3 сут, причем в группе ЛО статистически значимого уменьшения этого показателя не наблюдалось (рис. 1а). По 5-балльной шкале в группе ОСМА максимальный неврологический дефицит детектировали в день операции, на 1 и 3 сут после окклюзии и затем он постепенно уменьшался к 14 сут (рис. 1б). У крыс в группе ЛО неврологический дефицит отсутствовал.

После ОСМА активация ГГНС по уровню кортикостерона происходила на 1 сут и содержание гормона в крови статистически значимо возросло в 1.6 раза (табл. 1). Исследуемые факторы не оказывали статистически значимого влияния на этот показатель. Уровень BDNF в крови крыс после ОСМА существенно не отличался от уровня нейротрофина в группе ЛО на всех сроках исследования. В отличие от BDNF динамика изменения циркулирующего уровня NGF после ОСМА статистически значимо превышала данный пока-

затель в группе ЛО на ранних сроках исследования. Так, на 1 и 3 сут после ОСМА уровень NGF статистически значимо возрос в 1.57 раза и в 1.58 раза соответственно, но на 7 и 14 сут уже не отличался от контрольных значений. На динамику изменения уровня NGF в крови оказывали влияние фактор “время” ($F(3,58) = 2.93$; $p = 0.042$), фактор “группа” на уровне тенденции к достоверности ($F(1,58) = 2.98$; $p = 0.089$) и взаимодействие факторов “время” и “группа” ($F(3,58) = 3.44$; $p = 0.023$).

Возросший уровень кортикостерона в крови на 1 сут сопровождался его аккумуляцией в ДГ ишемического полушария, где его содержание достоверно увеличилось в 1.44 раза (табл. 2). На уровень кортикостерона в ДГ ипсилатерального полушария с тенденцией к достоверности оказывали влияние факторы “время” ($F(3,51) = 2.29$; $p = 0.088$) и “группа” ($F(1,51) = 2.98$; $p = 0.090$). Так же как и кортикостерон, на 1 сут после ОСМА повысился уровень BDNF в ДГ ишемического полушария, хотя и на уровне тенденции к достоверности ($p < 0.1$).

Он был в 1.23 раза выше, чем в группе ЛО. Высокий уровень BDNF в ДГ сохранялся и на 3 сутки, статистически значимо в 1.30 раза, превышая

Таблица 1. Динамика изменения уровня кортикостерона (КС), BDNF и NGF в крови крыс после ОСМА

Показатель	Группа	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
КС, нМ	ЛО	1042 ± 205	1159 ± 178	1027 ± 201	1191 ± 79
	ОСМА	$1668 \pm 266^*$	1178 ± 158	1151 ± 195	943 ± 151
BDNF, пг/мл	ЛО	724 ± 94	574 ± 19	756 ± 95	553 ± 59
	ОСМА	613 ± 69	616 ± 81	741 ± 127	566 ± 55
NGF, пг/мл	ЛО	1.54 ± 0.30	2.03 ± 0.24	2.50 ± 0.21	3.12 ± 0.43
	ОСМА	$2.42 \pm 0.25^*$	$3.21 \pm 0.43^*$	2.47 ± 0.26	2.58 ± 0.20

Условные обозначения: * $p < 0.05$ – отличия от группы ЛО.

Таблица 2. Динамика изменения уровня кортикостерона (КС), BDNF и NGF в дорсальном (ДГ) и вентральном (ВГ) гиппокампе ишемического полушария

Показатель	РГ	Группа	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
КС, пмоль/г ткани	ДГ	ЛО	296 ± 56	287 ± 28	310 ± 29	279 ± 32
		ОСМА	428 ± 59*	349 ± 20	288 ± 20	269 ± 26
	ВГ	ЛО	346 ± 93	152 ± 13	268 ± 44	249 ± 24
		ОСМА	296 ± 49	206 ± 27	272 ± 60	231 ± 22
BDNF, нг/г ткани	ДГ	ЛО	18.6 ± 1.0	18.4 ± 1.2	18.3 ± 1.3	19.0 ± 1.6
		ОСМА	22.9 ± 2.5#	24.0 ± 1.8*	15.8 ± 1.1	19.0 ± 1.2
	ВГ	ЛО	20.3 ± 1.1	17.5 ± 1.3	19.5 ± 1.6	20.9 ± 1.0
		ОСМА	26.8 ± 2.9*	21.0 ± 2.1	20.8 ± 1.1	18.3 ± 1.3
NGF, пг/г ткани	ДГ	ЛО	527 ± 22	509 ± 22	519 ± 17	515 ± 29
		ОСМА	515 ± 30	602 ± 26*	533 ± 19	584 ± 25
	ВГ	ЛО	731 ± 43	753 ± 40	732 ± 19	803 ± 23
		ОСМА	804 ± 70	795 ± 55	719 ± 34	824 ± 22

Условные обозначения: РГ – регион гиппокампа; * $p < 0.05$, # $p < 0.1$ – отличия от группы ЛО.

таковой в группе ЛО. На уровень BDNF в ДГ оказывал статистически значимое влияние фактор “время” ($F(3,56) = 3.10$; $p = 0.034$) и взаимодействие факторов “время” и “группа” ($F(3,56) = 3.0$; $p = 0.038$), а также с тенденцией к достоверности фактор “группа” ($F(1,56) = 3.0$; $p = 0.089$). В ВГ ишемического полушария уровень BDNF статистически значимо возрос в 1.32 раза также на 1 сут после ОСМА, тогда как на 3, 7 и 14 сут содержание нейротрофина практически не отличалось от такового в группе ЛО. На уровень BDNF в ВГ ипсилатерального полушария оказывали статистически значимое влияние фактор “время” ($F(3,57) = 2.90$; $p = 0.043$) и взаимодействие факторов “время” и “группа” ($F(3,57) = 2.88$; $p = 0.044$), а также с тенденцией к достоверности фактор “группа” ($F(1,57) = 3.75$; $p = 0.058$). В отличие от BDNF уровень NGF в меньшей степени изменился в ДГ ишемического полушария, в котором уровень нейротрофина только на 3 сут достоверно увеличился в 1.18 раза, а на его содержание влиял с тенденцией к достоверности фактор “группа” ($F(1,58) = 3.59$; $p = 0.063$). В ВГ ипсилатерального полушария ОСМА существенно не повлияла на уровень NGF и никаких различий между группами в исследованном постинсультном периоде не наблюдалось.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Активация ГНС начинается в первые часы после ОСМА и может быть достаточно протяженной с сохранением повышенного уровня глюкокортикоидов кортизола/кортикостерона в крови даже в течение нескольких суток [25, 26]. Как из-

вестно, глюкокортикоиды обладают противовоспалительным и иммуносупрессивным действием и широко используются в терапии для блокирования воспалительных процессов. Тем не менее, накапливаются экспериментальные свидетельства в пользу того, что глюкокортикоиды в соответствующих условиях могут обладать как анти-, так и провоспалительными эффектами в ЦНС [27, 28]. Активация ГНС по нашим данным происходила кратковременно и на ранних сроках после ОСМА, т. к. возросший уровень кортикостерона в крови наблюдали только на 1 сут после фокального инсульта, что сопровождалось также аккумуляцией стресс-гормона в ДГ, но не в ВГ, в это же время.

В отличие от кортикостерона, никаких изменений уровня BDNF в крови не удалось выявить. Отсутствие реактивности циркулирующего уровня BDNF на инсульт соответствует данным других авторов, полученных в экспериментальных и клинических условиях. Разная степень тяжести мультифокального ишемического инсульта, моделированная введением в кровоток крыс микросфер, не повлияла на уровень циркулирующего BDNF, который также не коррелировал с повышенным уровнем нейротрофина в мозге через 2 ч, 4 ч и 8 дней после эмболизации [29]. В течение четырех дней после ишемического инсульта уровень BDNF не изменялся в плазме пациентов [30]. Тем не менее, низкий уровень BDNF в крови в острой фазе ишемического инсульта был связан с медленным функциональным восстановлением пациентов [31].

Уровень NGF в системном кровотоке оказался более реактивным после ишемического инсульта,

чем BDNF. Разнонаправленные изменения уровня NGF в крови наблюдали на экспериментальных моделях и у пациентов после ишемического инсульта. Через 24 ч после 2 ч ОСМА детектировали снижение уровня NGF в крови крыс [32]. У пациентов с “лучшим” функциональным восстановлением через 24 ч после ишемического инсульта уровень NGF в крови был выше, чем в контрольной группе и группе с “худшим” восстановлением [33]. Согласно полученным нами результатам повышение уровня NGF в крови на 1 и 3 сут после 1 ч ОСМА, вероятно, свидетельствует о нормальном функциональном восстановлении животных.

Постинсультное повышение продукции нейротрофинов в нейронах и микроглии перифарктной зоны в неокортексе рассматривают как компенсаторный механизм, направленный на предотвращение избыточной гибели нейронов [34]. Любые воздействия, приводящие к повышению эндогенного уровня нейротрофинов, будут играть важную роль в предотвращении последствий инсульта. Так, ежедневные упражнения на беговой дорожке в течение трех недель до ОСМА привели к уменьшению неврологического дефицита у крыс и снижению объема инфаркта в фронтопариетальной коре и дорсолатеральном стриатуме и этот эффект коррелировал с повышением уровня экспрессии BDNF и NGF в нейронах коры и глиальных клетках стриатума после курса тренировки [35].

Экспрессия генов нейротрофинов и их рецепторов зависит от интенсивности фокальной ишемии. Повышение уровня экспрессии мРНК BDNF, NGF, TrkA и TrkB регистрировали в первые часы после транзиторной (2 ч) ОСМА в различных областях коры больших полушарий и полях гиппокампа, а к 24 ч уровень экспрессии исследованных генов не отличался от контрольных значений. При менее интенсивном варианте ОСМА (15 мин) возросший уровень экспрессии мРНК BDNF был выявлен через 2 ч реперфузии в цингулярной и фронтальной коре, но не в гиппокампе [36]. В результате фокальной ишемии, индуцированной инъекцией микросфер и вызывающей повреждение гиппокампа, высокий уровень белка BDNF в этом регионе сохранялся через неделю после воздействия [37]. После четырехчасовой ОСМА с использованием *in situ* гибридизации повышенная экспрессия мРНК BDNF и TrkB зарегистрирована в зубчатой фасции и CA1–CA4 полях гиппокампа билатерально [38].

В нашем исследовании в результате умеренной транзиторной ОСМА уровень белка BDNF возрос в ДГ и ВГ на 1 и 3 сут, а NGF только в ДГ ишемического полушария на 3 сут. Увеличение уровня белка BDNF в ДГ на 1 сут совпадало с появлением кортикостерона в этом регионе гиппокампа, что несколько противоречит известным реципрокным из-

менениям уровня нейротрофина и стресс-гормона. Тем не менее, есть данные о положительном влиянии кортикостерона на нейротрофиновый сигналинг. Если однократная инъекция высокой дозы кортикостерона способствовала снижению уровня экспрессии мРНК BDNF в зубчатой фасции и в CA1 и CA3 полях гиппокампа, то после низкой дозы кортикостерона регистрировали повышение уровня экспрессии мРНК TrkB в CA3 и зубчатой фасции [39]. Также в пользу положительной связи между кортикостероидным и нейротрофиновым сигналингом свидетельствует и тот факт, что у мышей, нокаутных по гену глюкокортикоидных рецепторов, нарушен BDNF/TrkB сигналинг в мозге [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате умеренной ОСМА активность ГГНС по уровню кортикостерона в крови повысилась на 1 сутки и сопровождалась аккумуляцией стресс-гормона только в ДГ ипсилатерального полушария, но не в ВГ. На ранних сроках после ишемического инсульта произошла активация нейротрофиновой системы в виде увеличения циркулирующего уровня NGF и повышения экспрессии белка BDNF и NGF в обеих исследованных регионах гиппокампа ипсилатерального полушария, причем возрастание уровня BDNF в ДГ и ВГ произошло раньше, чем NGF, однако в дальнейшем уровень обоих нейротрофинов сохранялся высоким в ДГ, обеспечивая нейропластический и нейропротекторный потенциал данного региона гиппокампа, реактивность которого на активацию ГГНС первична по сравнению с ВГ.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-015-00519а.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам ИВНД и НФ РАН и утвержденным правовым актам РФ и международных организаций. Протокол эксперимента утвержден Этической комиссией ИВНД и НФ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nakane M., Tamura A., Sasaki Y., Teraoka A. // *Neuroradiology*. 2002. V. 44. P. 915–920.
2. Butler T., Kassed C., Sanberg P., Willing A., Penny-packer K. // *Brain Res*. 2002. V. 929. P. 252–260.

3. *Bloch F., Dihné M., Loos M.* // Prog. Neurobiol. 2005. V. 75. P. 342–365.
4. *Olsson T.* // J. Intern. Med. 1990. V. 228. P. 177–181.
5. *Fassbender K., Schmidt R., Mössner R., Daffertshofer M., Hennerici M.* // Stroke. 1994. V. 25. P. 1105–1108.
6. *Johansson A., Olsson T., Carlberg B., Karlsson K., Fagerlund M.* // J. Neurol. Sci. 1997. V. 147. P. 43–47.
7. *Marklund N., Peltonen M., Nilsson T.K., Olsson T.* // J. Intern. Med. 2004. V. 256. P. 15–21.
8. *Sapolsky R.* // Arch. Gen. Psychiatry. 2000. V. 57. P. 925–935.
9. *Jacobson L., Sapolsky R.* // Endocr. Rev. 1991. V. 12. P. 118–134.
10. *Sarabdjitsingh R., Meijer O., Schaaf M., de Kloet E.* // Brain Res. 2009. V. 1249. P. 43–53.
11. *Segal M., Richter-Levin G., Maggio N.* // Hippocampus. 2010. V. 20. P. 1332–1338.
12. *Гуляева Н.В.* // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2013. Т. 99. С. 3–16.
13. *Holtzman D., Sheldon R., Jaffe W., Cheng Y., Ferriero D.* // Ann. Neurol. 1996. V. 39. P. 114–122.
14. *Berretta A., Tzeng Y.C., Clarkson A.* // Expert. Rev. Neurother. 2014. V. 14. P. 1335–1344.
15. *Friedman W., Greene L.* // Exp. Cell Res. 1999. V. 253. P. 131–42.
16. *Reichardt L.* // Philos. Trans. Biol. Sci. 2006. V. 361. P. 1545–1564.
17. *Roux P., Barker P.* // Prog. Neurobiol. 2002. V. 67. P. 203–233.
18. *Hansson A., Sommer W., Rimondini R., Andbjør B., Strömberg I., Fuxe K.* // J. Neurosci. 2003. V. 23. P. 6013–6022.
19. *Smith M., Makino S., Kvetnansky R., Post R.* // J. Neurosci. 1995. V. 15. P. 1768–1777.
20. *Tapia-Arancibia L., Rage F., Givalois L., Arancibia S.* // Front. Neuroendocrinol. 2004. V. 25. P. 77–107.
21. *Jeanneteau F., Garabedian M., Chao M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 4862–4867.
22. *Longa E., Weinstein P., Carlson S., Cummins R.* // Stroke. 1989. V. 20. P. 84–91.
23. *Hunter A., Hatcher J., Virley D., Nelson P., Irving E., Hadingham S., Parsons A.* // Neuropharmacology. 2000. V. 39. P. 806–816.
24. *Gulyaeva N., Thompson C., Shinohara N., Lazareva N., Onufriev M., Stepanichev M., Moiseeva Y., Fliss H., Hakim A.* // J. Neurosci. Meth. 2003. V. 125. P. 183–193.
25. *Fassbender K., Schmidt R., Mössner R., Daffertshofer M., Hennerici M.* // Stroke. 1994. V. 25. P. 1105–1108.
26. *Smith-Swintosky V., Pettigrew L., Sapolsky R., Phares C., Craddock S., Brooke S., Mattson M.* // J. Cereb. Blood Flow Metab. 1996. V. 16. P. 585–598.
27. *Duque Ede A., Munhoz C.* // Front Endocrinol (Lausanne). 2016. V. 7. P. 78–80.
28. *Frank M., Thompson B., Watkins L., Maier S.* // Brain. Behav. Immun. 2012. V. 26. P. 337–345.
29. *Béjot Y., Mossiat C., Giroud M., Prigent-Tessier A., Marie C.* // PLoS One. 2011. V. 6. P. e29405.
30. *Di Lazzaro V., Profice P., Pilato F., Dileone M., Florio L., Tonali P., Angelucci F.* // Neurosci. Lett. 2007. V. 422. P. 128–130.
31. *Stanne T., Åberg N., Nilsson S., Jood K., Blomstrand C, Andreasson U., Blennow K., Zetterberg H, Isgaard J., Svensson J., Jern C.* // Stroke. 2016. V. 47. P. 1943–1945.
32. *Piao J., Wu W., Yang Z., Li Y., Luo Q., Yu J.* // Cell Physiol. Biochem. 2018. V. 46. P. 890–906.
33. *Luan X., Qiu H., Hong X., Wu C., Zhao K., Chen H., Zhu Z., Li X., Shen H., He J.* // Clin. Chim. Acta. 2019. V. 488. P. 20–24.
34. *Tejeda G., Díaz-Guerra M.* // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. P. E268.
35. *Ding Y., Li J., Luan X., Ding Y., Lai Q., Rafols J., Phillis J., Clark J., Diaz F.* // Neuroscience. 2004. V. 24. P. 583–591.
36. *Kokaia Z., Zhao Q., Kokaia M., Elmér E., Metsis M., Smith M., Siesjö B., Lindvall O.* // Exp. Neurol. 1995. V. 136. P. 73–88.
37. *Miyake K., Yamamoto W., Tadokoro M., Takagi N., Sakakawa K., Nitta A., Furukawa S., Takeo S.* // Brain Res. 2002. V. 935. P. 24–31.
38. *Arai S., Kinouchi H., Akabane A., Owada Y., Kamii H., Kawase M., Yoshimoto T.* // Neurosci. Lett. 1996. V. 211. P. 57–60.
39. *Schaaf M., Hoetelmans R., de Kloet E., Vreugdenhil E.* // J. Neurosci. Res. 1997. V. 48. P. 334–341.
40. *Li Y., Huang L., Ma Q., Concepcion K., Song M., Zhang P., Fu Y., Xiao D., Zhang L.* // Int. J. Mol. Sci. 2018. V. 19. P. E2428.

Neuroplastic Changes in Rat Hippocampus after Ischemic Stroke in the Neocortex: The Involvement of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis System and the Neurotrophin System

**M. V. Onufriev^a, Yu. V. Moiseeva^a, M. N. Volobueva^a,
A. A. Kvichansky^a, L. V. Tretyakova^a, and N. V. Gulyaeva^a**

^a*Institute of Higher Nervous Activity
and Neurophysiology RAS, Moscow, Russia*

Middle cerebral artery occlusion (MCAO) is the cause of most ischemic strokes, resulting in focal brain damage. In MCAO, not only different cortical areas are affected, but also brain regions located outside the infarction area, including the hippocampus. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPAA) leading

to an increase in the circulating level of glucocorticoids is one of the first response of the body to cerebral stroke. The balance between the degree of HPAА activation and the neuroprotective potential of the neurotrophin system may determine the severity of remote damage to the hippocampus, a brain region with extremely high density of corticosteroid receptors. We have studied the time course of changes in the level of corticosterone, BDNF and NGF in the blood and hippocampal regions of rats after a transient MCAO. An increase in the level of corticosterone in the blood occurred in early stages after MCAO and was accompanied by an appearance of this stress hormone in the dorsal hippocampus (DH) of the ischemic hemisphere. In contrast to the unchanged level of circulating BDNF, the expression of this neurotrophin increased in the DH and ventral hippocampus (VH) during early stages of reperfusion, while the level of NGF increased in the blood and then only in the DH. Thus, ischemic stroke in the neocortex induces HPAА activation, accumulation of corticosterone and an increase in BDNF protein expression to a greater extent than NGF in the ipsilateral hippocampal regions at early stages after MCAO.

Keywords: ischemic stroke, hippocampus, corticosterone, neurotrophins

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СФИНГОЛИПИДОВ В НИГРОСТРИАТНОЙ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ МОЗГА У МЫШЕЙ НА НЕЙРОТОКСИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

© 2021 г. А. В. Алесенко^{1, *}, В. Е. Блохин², М. А. Шупик¹, У. А. Гутнер¹, А. Т. Лебедев³,
О. А. Малошицкая^{1, 3}, С. А. Соколов³, М. В. Угрюмов²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля, Москва, Россия

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Поступила в редакцию 28.10.2020 г.

После доработки 16.12.2020 г.

Принята к публикации 19.01.2021 г.

Показано, что сфинголипиды необходимы для нормального функционирования нейронов, а нарушение их метаболизма сопровождается развитием болезней мозга, включая болезнь Паркинсона (БП). Поскольку возможности для изучения роли сфинголипидов в патогенезе БП на больных крайне ограничены, для решения этой задачи необходимо использовать экспериментальные модели. Так, в данной работе с помощью хромато-масс-спектрометрии впервые изучено содержание ключевых молекулярных видов сфинголипидов – суммарных церамидов, гексозилцерамидов и их молекулярных видов, сфингозина и сфинганина, обладающих проапоптотическими свойствами, у мышей на модели клинической стадии БП. Эта модель получена путем системного введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), который в мозге превращается в МФТП+ – токсин катехоламинергических нейронов. В контроле вместо МФТП вводили 0.9% NaCl. Было показано, что общая концентрация всех изученных сфинголипидов увеличивается в черной субстанции – в месте локализации тел дофаминергических нейронов, по сравнению с контролем. Это происходит за счет увеличения концентрации церамидов, связанных с жирными кислотами, таких как C18:1/14:0, C18:1/18:0, C18:1/24:1, а также моногексозилцеамидов, связанных с жирными кислотами, таких как C18:1/18:0 и C18:1/24:1. В отличие от черной субстанции, в стриатуме – месте проекции дофаминергических аксонов, изменения в содержании сфинголипидов не было обнаружено. Полученные данные свидетельствуют о том, что гибель нигростриатных дофаминергических нейронов на модели БП сопровождается изменением метаболизма сфинголипидов, что открывает новые возможности для изучения их роли в патогенезе этого заболевания и поиска нового класса препаратов, корректирующих метаболизм сфинголипидов.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, МФТП-модель, черная субстанция, стриатум, мышцы, церамид, гексозилцерамид, сфингозин, сфинганин, масс-спектрометрия

DOI: 10.31857/S1027813321020023

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия накоплены многочисленные клинические и экспериментальные данные, свидетельствующие о важной роли сфинголипидов и их производных в патогенезе болезней мозга, таких как рассеянный склероз, болезнь Гоше, болезнь Альцгеймера [1–4]. В основе патогенеза этих заболеваний лежит нарушение функций специфических нейронов – дифференцировки и межнейрональной сигнализации, а также некроза и апоптоза, в регуляции которых принимают участие такие простые

сфинголипиды как церамид, сфингозин, сфингозин-1-фосфат и гликозилцерамид (рис. 1) [5–7]. Все перечисленные классы сфинголипидов, как показано пока еще в немногочисленных исследованиях, включая и модельные эксперименты, претерпевают значительные изменения в ходе развития нейродегенеративных патологий, в том числе и БП [1, 8–11].

В последние годы появились первые доказательства участия сфинголипидов в патогенезе БП. Так, при БП, как и при болезни Гоше, выявлена мутация гена глюкоцереброзидазы – фермента, расщепляющего сфинголипид гликозилцерамид до глюкозы и церамида [12]. Кроме того,

* Адресат для корреспонденции: 119334 Россия, Москва, ул. Косыгина, 4, e-mail: alicealessenko@gmail.com.

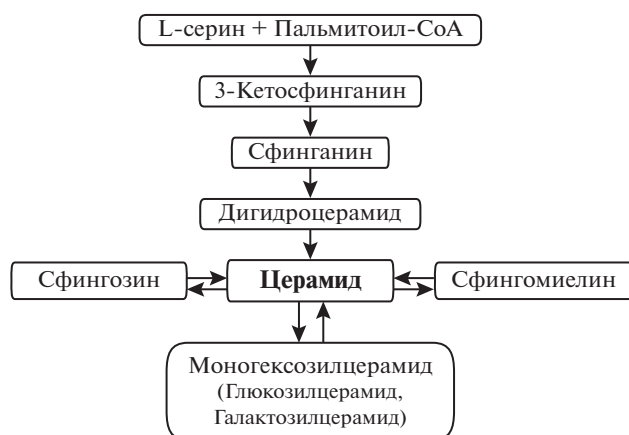


Рис. 1. Схема метаболизма церамида, моногексозилцерамида, сфинганина и сфингозина.

есть основания считать, что нарушение метаболизма церамида определенным образом связано с развитием синуклеинопатии [9] и образованием телец Леви – ключевого маркера БП [13]. Эти пионерские исследования открывают широкую перспективу для исследований роли сфинголипидов в молекулярных механизмах патогенеза БП, особенно нейродегенерации и нейропластичности.

Было установлено, что метаболические изменения в системе сфинголипидов при начальных стадиях БП сопровождаются увеличением риска развития данного заболевания, в том числе и с дементными осложнениями, а коррекция уровня отдельных видов сфинголипидов путем регулирования активности ферментов, участвующих в их метаболизме, может либо замедлить, либо предупредить развитие данной патологии [14]. Такие исследования непременно дадут возможность обнаружить новые мишени из числа ферментов сфинголипидного метаболизма и создать новые лекарственные средства для предупреждения и лечения болезни Паркинсона.

Учитывая то, что возможности проведения исследований на больных при БП, как и при большинстве других болезней мозга, крайне ограничены, особое значение приобретает возможность проведения систематических исследований на экспериментальных генетических и нейротоксических моделях БП. Поэтому целью данной работы явился анализ содержания сфинголипидов у мышей на разработанной нами ранее нейротоксической модели ранней клинической стадии БП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В данной работе использованы 16 самцов мышей линии C57Bl/6J в возрасте от 2 до 2,5 мес. и весом от 23 до 25 г. Животных содержали в виварии с 12 часовым циклом дня и ночи и сво-

бодным доступом (*ad libitum*) к пище и воде. Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с национальными и международными требованиями и правилами, утвержденными комитетом по охране животных ФГБУН Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Моделирование болезни Паркинсона и подготовка для анализа сфинголипидов. Мышам в контрольной группе ($n = 6$) 4 раза с интервалом в 2 ч подкожно вводили физиологический раствор. Для моделирования БП мышам ($n = 10$) четырежды с интервалом в 2 ч подкожно вводили МФТП в физрастворе (Sigma-Aldrich, США) в однократной дозе 10 мг/кг. Через 2 нед. после введения МФТП или физраствора мышей наркотизировали изофлураном (KentScientific, США), декапитировали и вычленили мозг. Из мозга при 4°C под контролем бинокулярной лупы выделяли росто-дорзальную область стриатум и черную субстанцию в соответствии с атласом мозга мышей. Кусочки ткани взвешивали, замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C до измерения содержания сфинголипидов.

Липиды выделяли из плазмы по методу Блайя–Дайера [15].

Масс-спектрометрическое детектирование молекулярных видов сфингомиелинов, церамидов и сфингоидных оснований (сфингозина и сфинганина), а также галактозилцерамидов проводили с помощью прибора TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific; Германия) в режиме мониторинга множественных реакций (MMP) при давлении в ячейке соударений 2.0 мТорр. Разрешение на Q1 и Q3 составляло 1.2 Да. Для церамидов фрагментацию исходных протонированных и дегидратированных молекул проводили при энергии 20 эВ до иона с отношением массы к заряду (m/z) 264.2 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингомиелинов фрагментацию исходных протонированных молекул проводили при энергии 20 эВ до иона с m/z 184.1 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфингозина и его дейтерированного стандарта (d7, Avanti; США) фрагментацию протонированных молекул проводили при энергии 12.5 эВ до ионов с m/z 259.3 и 252.3 Да, соответственно, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для сфинганина фрагментацию исходной протонированной молекулы проводили при энергии 12.5 эВ до иона с m/z 266.3 Да, время накопления сигнала составляло 35 мс. Для галактозилцерамида d18:1/18:0: ион $[M + H]^+$ с массой 728.5 Да. Использовали следующие параметры источника ионизации: температура нагревателя 300°C, температура капилляра 340°C, поток газа завесы – 45 п.е. (приборные единицы), поток вспомогательного газа – 13 п.е., поток продувочного газа – 1 п.е. В качестве стандартов использовали сфингозин d7, сфинганин, сфинго-

Таблица 1. Содержание сфингомиелинов, церамидов и моногексозилцерамидов в стриатуме и черной субстанции контрольных мышей и при введении МФТП

Группа	СФМ, нг/10 мг ткани		Цереброзиды, нг/10 мг ткани		Церамиды, нг/10 мг ткани	
	стриатум	ЧС	стриатум	ЧС	стриатум	ЧС
Контроль	9934.78 ± 1483.14	13594.24 ± 860.14	6156.11 ± 1079.42	12918.01 ± 1062.12	1948.55 ± 230.97	804.87 ± 73.25
БП	14056.55 ± 1047.92	20068.72 ± 1643.55	8703.38 ± 1174.79	17033.41 ± 1680.14	1874.10 ± 206.76	1575.66 ± 440.24

миелин d18:1/16:0, сфингомиелин d18:1/18:0, церамид d18:1/16:0, церамид d18:1/18:1, церамид d18:1/18:0, церамид d18:1/24:1, церамид d18:1/24:0, галактозилцерамид d18:1/18:0 (Avanti; США).

Хроматографическое разделение проводили с использованием системы Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific; Германия) на колонке Eclipse Plus C8 3.0 × 150 мм (Agilent; США), размер частиц 3.5 мкм. Температура составляла 50°C, поток – 400 мкл/мин. При определении сфингозина, церамидов и сфингомиелина использовали следующие составы мобильных фаз: фаза А – вода + 0.1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б – метанол + 0.1% (по объему) муравьиной кислоты (0.7 мин 55% фазы Б, 100% фазы Б к 6, 7-й мин, 100% фазы Б до 12-й мин, 55% фазы Б от 13-й до 17-й мин, 55% фазы Б к 13-й мин). При определении сфинганина использовали следующие составы мобильных фаз: фаза А – вода + 0.1% (по объему) муравьиной кислоты, фаза Б – 50% метанол + 50% ацетонитрил + 0.1% (по объему) муравьиной кислоты (1.5 мин 20% фазы Б, 100% фазы Б к 3, 2-й мин, 100% фазы Б до 6, 7-й мин, 20% фазы Б к 7, 7 мин, 20% фазы Б до 10-й мин).

Обработка данных. Относительное содержание церамидов оценивали по внешней калибровке (метод стандарта). В качестве стандарта использовали смесь церамидов Ceramide Porcine Brain 860052P (Avanti; США) с содержанием церамида d18:1/18:0 50% и d18:1/24:1 20%. Вычисления проводили по площадям пиков ММР-переходов $MH^+ \rightarrow m/z$ 264.4 Да и $(M + H - H_2O)^+ \rightarrow m/z$ 264.4 Да. Содержание сфингозина d18:1 определяли по внутренней калибровке (метод внутреннего стандарта, стандарт D-erythro-sphingosine d7, Sigma; США) по площадям ММР-переходов (m/z 300 $^+ \rightarrow m/z$ 252.3 Да для недеитерированного и m/z 307 $^+ \rightarrow m/z$ 259.3 Да для дейтерированного сфингозина). Содержание сфинганина d18:0 определяли по внешней калибровке (стандарт – DL-erythro-dihydrosphingosine, Sigma; США) по площадям ММР-переходов m/z 302 $^+ \rightarrow m/z$ 266.3 Да.

Статистическая обработка результатов. Размер выборок для биохимического анализа составил 3 и 5 в каждой из экспериментальных групп, т.е. статистика сделана для $n = 3$ и $n = 5$ в контрольной и подопытной группах. Достоверность различий оценивалась для 2 независимых выборок по

критерию Манна-Уитни, Для всех видов анализа достоверными считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Церамиды. В стриатуме у мышей в контроле общая концентрация всех молекулярных видов церамидов примерно в 2 раза выше, чем в черной субстанции. Около 80% церамидов в стриатуме представлено молекулярным видом C18:1/18:0. В черной субстанции основной вклад в общую концентрацию церамидов вносят C18:1/18:0 (34%) и C18:1/24:1 (9%). Молекулярные виды церамидов C18:1/14:0, C18:1/14:1, C18:1/16:1, C18:1/18:1, C18:1/20:1, C18:1/22:1, C18:1/26:0 и C18:1/26:1 либо определяются на грани разрешения метода, либо вообще не определяются (рис. 2а, б).

В стриатуме у мышей на модели БП общая концентрация всех изученных и отдельных церамидов была на уровне контроля. В черной субстанции у мышей на модели БП суммарная концентрация церамидов увеличилась по сравнению с контролем вдвое, в основном за счет двукратного увеличения концентрации молекулярных видов C18:1/16:0, C18:1/18:0 и C18:1/24:1. Также как и в контроле, молекулярные виды церамидов C18:1/14:0, C18:1/14:1, C18:1/16:1, C18:1/18:1, C18:1/20:1, C18:1/22:1, C18:1/26:0 и C18:1/26:1 определяются на грани разрешения или вообще не определяются (рис. 2а, б).

Моногексозилцерамиды. Общая концентрация всех изученных моногексозилцерамидов в стриатуме у мышей в контроле была примерно в три раза ниже, а в черной субстанции примерно в 1.5 раза ниже, чем общая концентрация церамидов (табл. 1). У мышей на модели БП отмечена тенденция к увеличению общей концентрации моногексозилцерамидов, в стриатуме и в черной субстанции по сравнению с контролем. Увеличение общей концентрации моногексозилцерамидов в черной субстанции (табл. 1) обеспечивается за счет увеличения концентрации двух молекулярных видов – C18:1/18:0 и C18:1/24:1 (рис. 3). Следует отметить, что большая часть других молекулярных видов моногексозилцерамидов в стриатуме и в черной субстанции в контроле и в опыте не определяется.

Сфингоидные основания. Анализ сфингозина и сфинганина, способных более активно вызывать апоптоз, чем церамиды, в клетках ЦНС [21] показал,

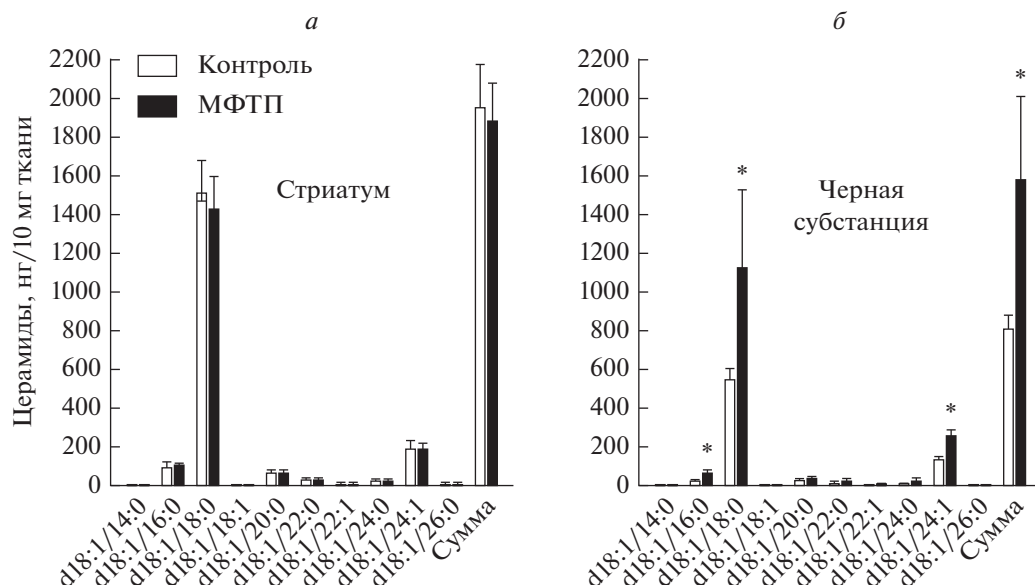


Рис. 2. Изменение содержания молекулярных видов церамидов в стриатуме и черной субстанции мозга мышей после введения физиологического раствора (контроль) и после четырехкратного введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в разовой дозе 10 мг/кг (4×10). Статистическая значимость: * $p < 0.05$ — относительно контроля.

что наблюдается значительное накопление сфингозина, обладающего выраженными проапоптотическими свойствами, в черной субстанции по сравнению с контролем на клинической стадии заболевания (рис. 4). В стриатуме таких резких изменений нет (рис. 4). Изменений в количестве

сфинганина по отношению к контрольным значениям в расчетах на ткань в стриатуме не происходит, но в черной субстанции наблюдается тенденция к повышению уровня этого сфинголипида, также обладающего апоптотическими свойствами. Однако следует отметить, что доля сфинганина и сфингозина в общем содержании сфинголипидов в нигростриатной системе у мышей в контроле и в опыте ничтожно мала. Тем не менее, концентрация сфингозина в стриатуме и в черной субстанции в контроле в несколько раз выше, чем концентрация сфинганина.

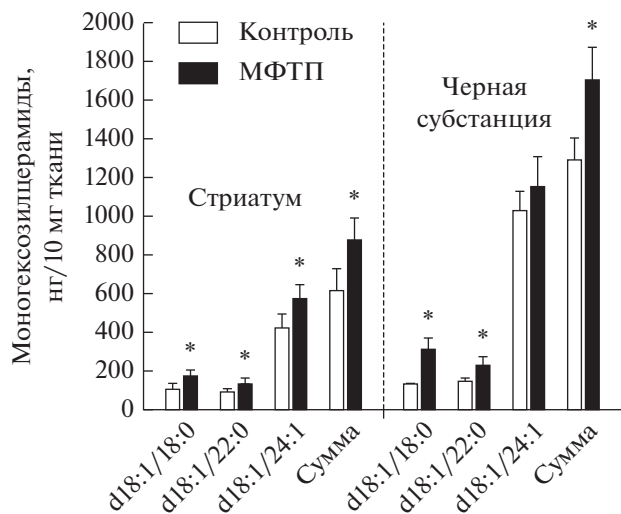


Рис. 3. Изменение содержания молекулярных видов моногалактозилцерамидов в стриатуме и черной субстанции мозга мышей после введения физиологического раствора (контроль) и после четырехкратного введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в разовой дозе 10 мг/кг (4×10). Статистическая значимость: * $p < 0.05$ — относительно контроля.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе была поставлена задача выяснить, можно ли воспроизвести на модели БП характерное для больных при нейродегенеративных заболеваниях нарушение метаболизма наиболее функционально значимых сфинголипидов — церамидов, включая моногалактозилцерамиды, а также сфинганина и сфингозина. Если это возможно, то откроются большие перспективы для изучения молекулярных механизмов и регуляции метаболизма сфинголипидов при БП. Метаболизм церамидов и галактозилцерамидов тесно связаны друг с другом (рис. 1) [16]. Гликозилсфинголипиды являются производными церамидов, к которым добавляется один или несколько сахарных остатков, присоединенных с помощью гликозидной связи к 1 гидроксигруппе церамида.

Для решения поставленной задачи была выбрана разработанная нами ранее острая модель

ранней клинической стадии БП, полученная на мышцах с помощью системно вводимого 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), который при поступлении в мозг превращается в МФТП+ — специфический токсин катехоламинергических нейронов, включая дофаминергические нейроны [17]. Проведенный в последние года тщательный анализ этой модели показал, что она в гораздо большей степени, чем другие известные модели БП, воспроизводит фенотип этого заболевания [18–21]. Выбор области мозга для изучения был предопределен тем, что именно дофаминергические нейроны nigrostriatной системы являются ключевым звеном регуляции двигательной функции [22]. Именно в этой структуре мозга нейроны подвергаются гибели по апоптотическому типу в результате действия МФТП [23, 24].

На модели БП и в контроле с помощью максимально чувствительного метода — масс-спектрометрии измеряли отдельно в черной субстанции и в стриатуме содержание указанных выше сфинголипидов, обладающих в значительной степени проапоптотическими свойствами. В данной работе показано, что концентрация суммарной фракции церамидов, особенно фракций С:18:1/18:0 и С:18:1/24:1, у мышей в черной субстанции на модели БП увеличена почти вдвое по сравнению с контролем. Напротив, в стриатуме изменений по этим показателям не было обнаружено. Полученные данные свидетельствуют о том, что метаболизм церамидов существенно изменился только в той области nigrostriatной системы, в которой произошла дегенерация дофаминергических нейронов. В той же области, где произошла только дегенерация аксонов этих нейронов, метаболизм церамидов не изменился. В дальнейшем необходимо выяснить, какие молекулярные механизмы лежат в основе нарушения метаболизма церамидов в черной субстанции и характерны ли эти изменения для нейронов и/или для глии.

По нашим данным, помимо церамидов, в nigrostriatной системе у мышей на модели БП также увеличилось содержание суммарной фракции моногексозилцерамидов по сравнению с контролем. Это особенно характерно для молекулярных видов с длинной цепью С18:0 и С24:1. Важно отметить, что, в отличие от церамидов, содержание молекулярных видов моногексозилцерамидов, у которых длина жирнокислотной цепи совпадает с церамидами, повышается не только в черной субстанции, но и в стриатуме. Эти результаты демонстрируют, с одной стороны, связь метаболизма этих сфинголипидов, а с другой — то, что дегенерация дофаминергических аксонов, также как и дегенерация тел нейронов, сопровождается нарушением метаболизма сфинголипидов, хотя и в меньшей степени.

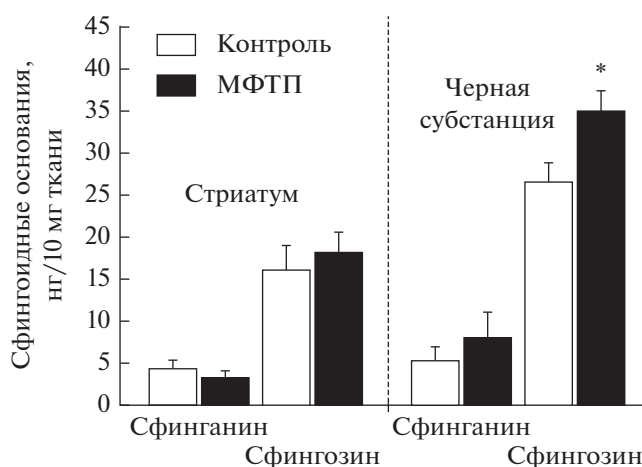


Рис. 4. Изменение содержания сфинганина и сфингозина в стриатуме и черной субстанции мозга мышей после введения физиологического раствора (контроль) и после четырехкратного введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в разовой дозе 10 мг/кг (4 × 10). Статистическая значимость: **p* < 0.05 — относительно контроля.

Следует отметить, что роль сфинголипидов в патогенезе БП не ограничивается нарушением межнейрональной сигнализации и стимулированием апоптоза, а также распространяется на формирование патологически измененного α-синуклеина. Так, при БП снижается активность глюкоцереброзидазы (ГЦ) — фермента, расщепляющего глюкозилцерамид до глюкозы и церамида. Это сопровождается накоплением в лизосомах глюкозилцерамида, который стабилизирует агрегированную олигомерную токсичную форму α-синуклеина [9, 14].

Особого внимания заслуживают полученные нами данные о содержании сфингоидных оснований — сфингозина и сфинганина, в nigrostriatной системе у мышей при моделировании БП. Оказалось, что у мышей на модели БП изменяется содержание только сфингозина и только в черной субстанции — оно увеличивается. В дальнейших исследованиях важно понять, какие последствия это может иметь для больного с учетом его способности индуцировать апоптоз [25–27]. Этот сфинголипид вызывает дегенерацию ДНК [28], передает токсический сигнал от фактора некроза опухоли-α [25], индуцирует окислительный стресс, активирует каспазы [27] и многие другие сигнальные молекулы апоптоза. Некоторые свойства сфингозина характерны также и для другого сфингоидного основания — дигидросфингозина или сфинганина — предшественника сфингозина в процессе его синтеза (рис. 1).

Мы впервые продемонстрировали участие сфингоидных оснований в гибели дофаминергических нейронов в черной субстанции при БП.

Однако ранее в ряде работ [29] было обнаружено, что гликозилированный сфингозин, который образуется в результате деацилирования из глюкозилцерамида, обладает более высоким токсическим эффектом на нейроны и другие клетки, чем церамид. Его содержание при болезни Гоше даже выше, чем глюкозилцерамида.

Оценивая в целом полученные в данной работе результаты, можно считать, что среди них самым важным является повышение уровня большинства из изученных сфинголипидов в черной субстанции у мышей на модели БП. Хотя до сих пор отсутствуют попытки оценить изменение содержания сфинголипидов в нигростриатной системе у больных при БП на патологическом материале, данные, полученные нами на модели БП, хорошо согласуются с данными, полученными при изучении коры мозга больных при болезни Альцгеймера [30]. Это в определенной степени означает, что использованная нами нейротоксическая модель БП адекватно воспроизводит изменение метаболизма сфинголипидов у больных при нейродегенеративных заболеваниях, что делает возможным переход к изучению молекулярных механизмов этого патологического процесса.

Таким образом, на нейротоксической модели БП получены доказательства того, что развитие этого заболевания может сопровождаться нарушением метаболизма сфинголипидов, вовлеченных в регуляцию дифференцировки и гибели нейронов

ВЫВОДЫ

На мышинной модели БП с введением подкожно 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропирин (МФТП) показаны изменения в молекулярных видах церамидов, гексозилцерамидах, сфингозине и сфинганине.

Довольно значительные изменения происходят в сфингоидном основании — сфингозине в черной субстанции на клинической стадии заболевания, когда отмечается гибель нейронов. Эти данные получены впервые при изучении новых механизмов БП.

Применение метода масс-спектрометрии позволило изучить специфические различия в спектре молекулярных видов церамидов и гексозилцерамидов в процессе развития БП по сравнению с контролем. Отмечено повышение уровня церамидов с насыщенными жирными кислотами. Более глубокое понимание биологических путей, регулирующих метаболизм различных сфинголипидов при развитии БП, может привести к идентификации мишеней для лекарственных препаратов. В качестве таких мишеней могут выступить ферменты метаболизма сфинголипидов, участвующих в патогенезе БП. Таким образом, подробное изучение

изменений в метаболизме сфинголипидов при БП позволит более подробно понять патологические аспекты БП и создать новые лекарственные средства для лечения данной нейродегенеративной патологии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-КОМФИ 18-00-01334.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все манипуляции с животными были проведены в соответствии с национальными и международными требованиями и правилами, утвержденными комитетом по охране животных ФГБУН Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Протокол № 27 от 04.07.2019 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Alessenko A.V., Albi E.* Front Neurol. 2020 May 21; 11:437.
2. *Gutner U.A., Shupik M.A., Maloshitskaya O.A., Sokolov S.A., Rezyukh A.P., Funikov S.Y., Lebedev A.T., Ustyugov A.A., Alessenko A.V.* // Biochemistry (Mosc.). 2019. V. 84(10). P. 1166–1176.
3. *Sardi S.P., Viel C., Clarke J., Treleaven C.M., Richards A.M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017 V. 114(10). P. 2699–2704.
4. *Wang, G., Bieberich, E.* // Adv. Biol. Regul. 2018. V. 70. P. 51–64.
5. *Hannun Y.A., Obeid L.M.* // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2008. V. 9(2). P. 139–150.
6. *Maceyka M., Spiegel S.* // Nature. 2014. V. 510. P. 58–67.
7. *Trayssac M., Hannun Y.A., Obeid L.M.* // J. Clin. Invest. 2018. V. 128(7):2702-2712.
8. *Alecu I., Bennett S.* // Front. Neurosci. 2019. V. 13. P. 328–332.
9. *Galvagnion C.* // J. Parkinson's Disease. 2017. V. 7. P. 433–450.
10. *Xicoy H., Wieringa B., Martens G.J.* // Cells. 2019. V. 8(1). P. 27–33.
11. *Indellicato R., Trincherà M.* // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. P. E3304.
12. *Gegg M.E., Schapira A.H.V.* // FEBS J. 2018. V. 285. P. 3591–3603.
13. *Rocha E.M., Smith G.A., Park E., Cao H., Graham A.R., Brown E., McLean J.R. et al.* // Antioxid. Redox. Signal. 2015. V. 23(6). P. 550–564.
14. *Mielke M.M., Maetzler W., Haughey N.J., Bandaru V.V., Savica R., Deuschle C., et al.* // PLoS One. 2013. V. 8(9). P. 73094.
15. *Bligh T.G., Dyer W.J.* // A rapid method of total lipid extraction and purification, Can. J. Biochem. Physiol. 1959. V. 37. P. 911–917.

16. Hannun Y.A., Luberto C. // Trends. Cell. Biol. 2000. V. 10. P. 73–80.
17. Ugrumov M.V., Khaindrava V.G., Kozina E.A., Kucheryanu V.G., Bocharov E.V., Kryzhanovsky G.N., Kudrin V.S., Narkevich V.B., Klodt P.M., Rayevsky K.S., Pronina T.S. // Neuroscience. 2011. V. 181. P. 175–188.
18. Kozina E.A., Kim A.R., Kurina A.Y., Ugrumov M.V. // Neurobiol. Dis. 2017. V. 98. P. 108–121.
19. Kozina E.A., Khakimova G.R., Khaindrava V.G., Kucheryanu V.G., Vorobyeva N.E., Krasnov A.N., Georgieva S.G., Kerkerian-Le Goff L., Ugrumov M.V. // J. Neurol. Sci. 2014. V. 340. P. 198–207.
20. Mingazov E.R., Khakimova G.R., Kozina E.A., Medvedev A.E., Buneeva O.A., Bazyan A.S., Ugrumov M.V. // Mol Neurobiol. 2018. V. 55. P. 2991–3006.
21. Kim A., Nigmatullina R., Zalyalova Z., Soshnikova N., Krasnov A., Vorobyeva N., Georgieva S., Kudrin V., Narkevich V., Ugrumov M // Mol. Neurobiol. 2019. V. 56. P. 3437–3450.
22. Nicotra A., Parvez S. // Neurotoxicol. Teratol. 2002. V. 24. P. 599–605.
23. Jackson–Lewis V., Jakowec M., Burke R.E., Przedborski T. // Neurodegeneration. 1995 V.4. P. 257–269.
24. Agid Y. // Lancet. 1991. V. 337. P. 1321–1324.
25. Krown K.A., Page M.T., Nguyen C., Zechner D., Gutierrez V., Comstock K.L. et al. // J. Clin. Invest. 1996. V. 98. P. 2854–2865.
26. Sweeney E.A., Sakakura C., Shirahama T., Masamune A., Ohta H., Hakamori S., Igarashi Y. // Int. J. Cancer. 1996. V. 66. P. 358–366.
27. Cuvillier O., Nava V.T., Murthy S.K., Edsall L.C., Levade T., Milstien S., Spiegel S. // Cell Death Differ. 2001. V. 8. P. 162–171.
28. Tamiya–Koizumi K., Murate T., Suzuki M., Simbulan C.M., Nakagawa M., Takemura M. et al. // Biochem. Mol. Biol. Int. 1997. V. 41. P. 1179–1189.
29. Taguchi Y.V., Liu J., Ruan J., Pacheco J., Zhang X., Abbasi J. et al. J. Neurosci. 2017. V. 37(40). P. 9617–9631.
30. Filippov V., Song M.A., Zhang K., Vinters H.V., Tung S., Kirsch W.M., Yang J., Duerksen-Hughes P.J. 2012. J. Alzheimers. Dis. V. 29. P. 537–547.

Changes in the Content of Sphingolipids in the Nigrostriate Dopaminergic System of the Mice Brain on the Neurotoxic Model of Parkinson's Disease

A. V. Alessenko^a, V. E. Blokhin^b, M. A. Shupik^a, U. A. Gutner^a, A. T. Lebedev^c,
O. A. Maloshitskaya^{a,c}, S. A. Sokolov^c, and M. V. Ugrumov^b

^aEmanuel Institute of Biochemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^bKoltsov Institute of Developmental Biology,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^cLomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

It was shown that sphingolipids are necessary for the normal functioning of neurons, and a violation of their metabolism accompanies the development of brain diseases, including Parkinson's disease (PD). Since the possibilities for studying the role of sphingolipids in the pathogenesis of PD in patients are extremely limited, experimental models must be used to solve this problem. Thus, in this work, using the chromatography-mass spectrometry for the first time, we studied the content of key molecular species of sphingolipids – total ceramides, hexosylceramides and their molecular species, sphingosine and sphinganin with proapoptotic properties in mice using a model of the clinical stage of PD. This model was obtained by systemically administering 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), which in the brain turns into MPP⁺, a toxin of catecholaminergic neurons. In the control, instead of MPTP, 0.9% NaCl was injection. It was shown that the total concentration of all studied sphingolipids increases in the substantia nigra – at the site of dopaminergic neuron bodies localization, compared to the control. This is due to an increase in the concentration of ceramides associated with fatty acids, such as C18:1/14:0, C18:1/18:0, C18:1/24:1, and monohexosylceamides associated with fatty acids such as C18:1/18:0 and C18:1/24:1. Unlike the substantia nigra, in the striatum – the site of projection of dopaminergic axons, no changes in the content of sphingolipids were detected. The obtained data indicate that the death of nigrostriatal dopaminergic neurons in the PD model is accompanied by a change in the metabolism of sphingolipids, which opens up new possibilities for studying their role in the pathogenesis of this disease and searching for a new class of drugs that correct sphingolipid metabolism.

Keywords: Parkinson's disease, MPTP model, substantia nigra, striatum, mice, ceramide, hexosylceramide, sphingosine, sphinganin, mass spectrometry

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 615.21+612.014

ГЕПТАПЕПТИДНЫЙ АНАЛОГ ТАФТСИНА СЕЛАНК ПРЕПЯТСТВУЕТ УВЕЛИЧЕНИЮ СОДЕРЖАНИЯ ТОРМОЗНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МОЗГЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОЙ АБСТИНЕНЦИИ У КРЫС

© 2021 г. Л. Г. Колик¹, *, А. В. Надорова¹, В. Г. Коньков¹, В. Б. Наркевич¹, В. С. Кудрин¹

¹ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 16.03.2020 г.

После доработки 12.11.2020 г.

Принята к публикации 03.12.2020 г.

Хроническое действие этанола у млекопитающих вызывает нарушение баланса возбуждающих и тормозных нейромедиаторных аминокислот, к числу которых относятся снижение активности ГАМК-ергической тормозной и повышение глутаматергической возбуждающей активности. Ранее была доказана эффективность пептидного анксиолитика селанка в отношении индуцированной отменой этанола тревожной реакции и нарушений памяти. С целью изучения нейробиохимического механизма действия селанка при моделировании алкогольной абстиненции проведена оценка влияния препарата на содержание нейромедиаторных аминокислот в отдельных структурах мозга у крыс. Эксперименты выполнены на беспородных крысах-самцах, потреблявших в течение 30-ти недель 10% раствор этанола в качестве единственного источника жидкости. В ходе алкоголизации была выделена подгруппа животных с высоким уровнем мотивации к потреблению алкоголя, на которых и была проведена основная часть работы. Селанк в анксиолитической дозе 0.3 мг/кг вводили в течение 7 сут внутрибрюшинно на фоне отмены этанола. Декапитацию проводили через 24 ч после последней инъекции препарата. В опытах *ex vivo* с помощью ВЭЖХ/ФД установлено, что селанк препятствовал индуцированному отменой этанола повышению содержания аспарагиновой кислоты, глицина и таурина в гипоталамусе, ГАМК в прилежащем ядре и аспарагиновой кислоты и глицина в стриатуме. Полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях алкогольной депривации фармакологическое действие селанка связано со снижением уровня тормозных нейромедиаторных аминокислот.

Ключевые слова: селанк, этанол, нейромедиаторные аминокислоты, гипоталамус, прилежащее ядро, стриатум, крысы, ВЭЖХ

DOI: 10.31857/S1027813321020084

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно, что хроническое введение алкоголя приводит к нарушению соотношения возбуждающих и тормозных нейромедиаторных аминокислот у млекопитающих. Отказ от алкоголя также вызывает дальнейший дисбаланс этих нейротрансмиттеров, среди которых основными являются снижение содержания тормозной аминокислоты ГАМК и увеличение концентрации глутамата — основной возбуждающей аминокислоты, что, по-видимому, может быть причиной возобновления потребления алкоголя (“*negative reinforcement*”) [1, 2].

Разработка эффективных средств фармакотерапии для снижения частоты рецидивов является одной из проблем современной фармакологии. В настоящее время к препаратам первой линии ле-

чения алкогольной зависимости относят производные бензодиазепинов, основным механизмом действия которых является влияние на ГАМК-ергические пути [3]. Другие подходы включают блокаду ионотропных глутаматных рецепторов NMDA (N-метил-D-аспартат) подтипа [4]. К числу соединений последнего типа относится, например, акампросат, вызывающий снижение нейрональной гипервозбудимости посредством подавления активности глутаматергических медиаторных систем (особенно нейропередачи, опосредуемой N-метил-D-аспартатными рецепторами). Установлено, что этот препарат полностью блокирует этанол-индуцированное увеличение содержания глутамата в среднем мозге, наблюдаемое при моделировании острой (до 48 ч) алкогольной абстиненции [1]. По мнению ряда исследователей, молекулярной мишенью действия акампросата могут быть также глициновые рецепторы (GlyR) в прилежащем ядре [5], что согласуется с фармаколо-

* Адресат для корреспонденции: 125315 Россия, Москва, Балтийская ул., 8, тел.: (495) 601-22-38, e-mail: lgkolik@mail.ru.

гическими, молекулярными, электрофизиологическими и поведенческими данными, указывающими на ключевую роль стрихнин-чувствительных GlyR в проявлении эффектов этанола и влиянии на характер потребления через систему положительного подкрепления [6].

Выраженный когнитивный дефицит, развивающийся на фоне хронической алкоголизации, наблюдается как у людей [7], так и экспериментальных животных [8]. Когнитивные нарушения у пациентов с алкогольной зависимостью частично обратимы при длительном отказе от алкоголя, однако, восстановление функций подчинено определенной временной зависимости. Значительные изменения в отношении торможения/импульсивности у выздоравливающих пациентов с диагнозом “алкоголизм” сильнее проявляются в более поздние периоды (до 1-го года) по сравнению с ранними периодами абстиненции (до 1-го месяца) [7]. Эти наблюдения находят подтверждение и в экспериментальных работах, в которых отмечались нарушения контроля реакции торможения, которые развиваются в течение нескольких дней после алкогольной депривации [8]. По данным нейрохимических исследований, к концу 7-х суток после отказа от алкоголя не происходит полного восстановления выявленных в острой фазе алкогольной абстиненции нейромедиаторных сдвигов в коре больших полушарий у крыс [9].

Оригинальный отечественный препарат селанк, синтезированный на основе модификации структуры молекулы эндогенного регуляторного пептида тафтсина (Институт молекулярной генетики РАН), в настоящее время используется в качестве анксиолитического средства с ноотропным компонентом действия и принципиально отличается от применяемых при фармакотерапии алкоголизма бензодиазепиновых транквилизаторов [10]. Ранее в опытах *in vivo* была показана эффективность селанка при купировании повышенной тревожности, индуцированной отменой этанола [11], а также положительное влияние препарата на возрастные нарушения памяти, сопровождающиеся хронической алкогольной интоксикацией, у крыс [12]. В опытах *ex vivo* показано, что селанк в анксиолитической дозе *per se* вызывает увеличение содержания как возбуждающих (аспартат, глутамат), так и тормозных (ГАМК, глицин, таурин) аминокислот [13]. Однако, в настоящее время сведения о нейрохимических изменениях, вызываемых селанком на фоне отмены этанола, отсутствуют. В связи со сказанным, целью работы являлось изучение эффектов селанка на содержание нейротрансмиттерных аминокислот в коре и подкорковых структурах головного мозга этанол-предпочитающих крыс в условиях алкогольной депривации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные. Эксперименты выполнены на беспородных половозрелых крысах-самцах (ФГБНУ “Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства”, филиал “Столбовая”, $n = 126$), которых, начиная с возраста 10 недель (средняя масса 175.6 ± 6.2 г), содержали в индивидуальных клетках ($370 \times 200 \times 150$ мм) в стандартных условиях вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова” при регулируемом световом режиме 12 ч/12 ч (свет/темнота) и постоянной температуре ($21-23^\circ\text{C}$) со свободным доступом к воде и брикетированному корму.

Препараты. Селанк (Треонил-лизил-пролил-аргинил-пролил-глицин-пролина диацетат, субстанция, ИМГ РАН) в дозах 0.3 мг/кг (водный раствор, 0.1 мл/100 г массы животного, в/б), этанол (ООО “Главспирт”) в виде раствора 10 об. %.

Формирование высокой алкогольной мотивации у крыс осуществляли на крысах, которые содержались в индивидуальных клетках с предоставлением 10% раствора этанола в качестве единственного источника жидкости ($n = 106$) в течение 30 нед. Кроме того, использовали крыс того же возраста, не имевших в течение 30 недель доступа к этанолу ($n = 20$), в соответствии с ранее описанной методикой [14]. Для оценки уровня сформированной алкогольной мотивации на 29-й неделе после 48-часовой алкогольной депривации измеряли: (1) алкоголь-депривационный эффект (АДЭ) (в г/кг) при предоставлении свободного выбора между водой и 10% раствором этанола в течение первых 90 мин, (2) потребление раствора этанола (в г/кг в сутки) и (3) предпочтение этанола (в %) в течение последующих 24 ч. После оценки влечения к этанолу питьевой режим был восстановлен с использованием 10% раствора этанола в качестве единственного источника жидкости у опытной группы животных до 30-й недели включительно (рис. 1). К концу 30-й недели вес животных составил 564.92 ± 6.76 г и количество потребляемого этанола — 5.18 ± 0.08 г/кг ($n = 106$). Возраст крыс к концу алкоголизации составил 40 нед.

Разделение на группы по степени влечения к этанолу проводили с помощью иерархического кластерного анализа (метод Уорда, Евклидово расстояние).

Учитывая данные литературы об отсутствии восстановления баланса нейромедиаторных аминокислот в течение 7-дневного постинтоксикационного периода [9], а также опираясь на экспериментальные данные о положительных эффектах селанка в отношении нормализации процессов, связанных с памятью и вниманием в условиях алкогольной депривации [12], была выбрана схема эксперимента, предусматривающая 7-дневную отмену этанола.

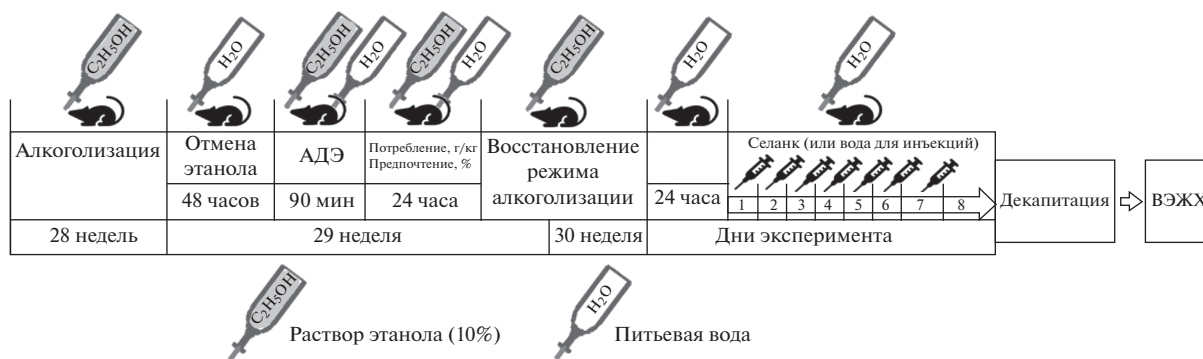


Рис. 1. Схема эксперимента.

Схема эксперимента. Животные были разделены на следующие группы:

“контроль” – крысы, не имевшие доступа к этанолу в течение 30 нед., получали воду для инъекций (7 дней, в/б, раз в сутки);

“контроль селанк” – крысы, не имевшие доступа к этанолу в течение 30 нед., получали селанк в дозе 0.3 мг/кг (7 дней, в/б, раз в сутки);

“этанол” – крысы, имевшие доступ к этанолу в течение 30 нед., получали воду для инъекций (7 дней, в/б, раз в сутки) на фоне отмены этанола;

“этанол селанк” – крысы, имевшие доступ к этанолу в течение 30 нед., получали селанк в дозе 0.3 мг/кг (7 дней, в/б, раз в сутки) на фоне алкогольной депривации.

Отмена этанола происходила за сутки до 1-ой инъекции селанка (или воды для инъекций). Декапитацию проводили через 24 ч после последней инъекции препарата (рис. 1).

Нейрохимические исследования. Структуры мозга (префронтальная кора, гипоталамус, миндалевидное тело, прилежащее ядро, стриатум и гиппокамп) извлекались на льду, замораживались в жидком азоте и взвешивались. Перед экспериментами по определению содержания нейротрансмиттеров пробы размельчали в механическом гомогенизаторе (тефлон-стекло) в 1 мл 0.1 н HClO₄. Пробы центрифугировали при 10 000 g в течение 10 мин. Получившийся супернатант в дальнейшем использовали для определения содержания тормозных (ГАМК, глицин, таурин) и возбуждающих (аспарат, глутамат) нейромедиаторных аминокислот в структурах мозга методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуоресцентной детекцией (ВЭЖХ/ФД) согласно модифицированной методике Pearson et al. (1991). Для деривации аминокислот к 25 мкл супернатанта добавляли 25 мкл 0.1 М боратного буфера и 10 мкл *o*-фталальдегид-сульфитного реактива в 0.1 М боратном буфере (рН 9.5). ГАМК, аспарат, глутамат, таурин, глицин в начальной концентрации

0.1 мкМ/мл в 0.1 н HClO₄ использовали в качестве стандартной смеси для калибровки.

Через 20 мин после инкубации при комнатной температуре 20 мкл реакционной смеси наносили на колонку Hypersil ODS 5 мкМ, 4.6 × 250 мм. Регистрацию продуктов разделения проводили на флуоресцентном детекторе Agilent 1100, США, при длине волны возбуждения 230 нм и длине волны эмиссии 392 нм. Подвижная фаза для определения нейромедиаторных аминокислот состояла из 0.06 М NaH₂PO₄ · H₂O, 0.0032 М Na₂HPO₄, 0.025 мМ ЭДТА, и 1.24 мМ CH₃OH, рН 5.6. Скорость подвижной фазы составляла 1.5 мл/мин. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса Agilent-ChemStation. Величины концентрации нейромедиаторных аминокислот в опытных образцах рассчитывали методом “внешнего стандарта”, исходя из соотношения площади пиков в стандартной смеси и в образце.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в ПСП Statistica v.8.0 (StatSoft, USA) при помощи двухфакторного дисперсионного анализа (анализируемые факторы: “Алкоголь” и “Селанк”) с последующим использованием критерия Дункана. Критический уровень значимости $\alpha = 0.05$. Данные представлены в виде $M \pm SEM$: M – средние значения, SEM – стандартная ошибка среднего. Для выявления различных фенотипов по степени предпочтения этанола использован иерархический кластерный анализ (метод Уорда, Евклидово расстояние).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью кластерного анализа гетерогенная популяция крыс была разделена на три группы по уровню алкогольной мотивации: “Высокий” (АДЭ 0.81 ± 0.03 г/кг), “Средний” (АДЭ 0.34 ± 0.03 г/кг) и “Низкий” (АДЭ 0.11 ± 0.02 г/кг) (табл. 1а).

Таблица 1.

а. Разделение гетерогенной популяции крыс по уровню алкогольной мотивации. $M \pm SEM$				
Группы	Уровни алкогольной мотивации			
	высокий ($n = 37$)	средний ($n = 22$)	низкий ($n = 47$)	ANOVA
Потребление раствора этанола (10 об %) в качестве единственного источника жидкости, г/кг в сутки	4.94 ± 0.08	5.31 ± 0.16	5.31 ± 0.15	$F(2, 103) = 2.372, p = 0.098$
АДЭ, г/кг	0.81 ± 0.03	$0.34 \pm 0.03^{***}$	$0.11 \pm 0.02^{*****}$	$F(2, 103) = 269.73, p = 0.000$
Потребление в условиях свободного выбора, г/кг в сутки	4.35 ± 0.14	$2.10 \pm 0.11^{***}$	$0.75 \pm 0.08^{*****}$	$F(2, 103) = 301.31, p = 0.000$
Предпочтение этанола в условиях свободного выбора, %	89.43 ± 1.84	$38.84 \pm 1.90^{***}$	$11.68 \pm 1.10^{*****}$	$F(2, 103) = 736.35, p = 0.000$

Примечание. Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: $*** p < 0.001$ по отношению к соответствующей группе “Высокий”; $+++ p < 0.001$ по отношению к соответствующей группе “Средний”.

б. Характеристика групп алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$				
Группы	Доступ к этанолу 30 недель		Без доступа к этанолу 30 недель	
	этанол ($n = 10$)	этанол селанк ($n = 10$)	контроль ($n = 10$)	контроль селанк ($n = 10$)
Потребление раствора этанола (10 об. %) в качестве единственного источника жидкости, г/кг в сутки	4.86 ± 0.15	4.99 ± 0.16	–	–
АДЭ, г/кг	0.71 ± 0.10	0.73 ± 0.09	–	–
Потребление в условиях свободного выбора, г/кг в сутки	3.72 ± 0.45	3.69 ± 0.37	–	–
Предпочтение этанола в условиях свободного выбора, %	76.74 ± 7.44	77.09 ± 7.53	–	–
Вес, г	568.00 ± 21.14	567.50 ± 13.82	562.00 ± 21.92	563.20 ± 29.27

Экспериментальные группы крыс “Этанол” ($n = 10$) и “Этанол Селанк” ($n = 10$) рандомизированно формировались из животных с высоким уровнем мотивации к потреблению алкоголя и не отличались по показателям, указанным в табл. 1б.

Согласно полученным данным, в префронтальной коре, гиппокампе и миндалевидном теле статистически значимых изменений содержания аминокислот у животных контрольной группы и крыс, подвергнутых хроническому действию этанола, не выявлено, что согласуется с известными из литературы данными [9].

Селанк *per se* при субхроническом введении не влиял на уровень возбуждающих и тормозных аминокислот (рис. 2–6), хотя ранее нами было установлено активирующее влияние этого соединения на уровень аминокислот в гипоталамусе в дозе 0.25 мг/кг при остром введении [13], что может объясняться различным дизайном исследования, в частности, временным интервалом от мо-

мента введения вещества до взятия биологического материала. Выраженные сдвиги в содержании нейромедиаторных аминокислот у этанол-предпочитающих крыс при отмене этанола зарегистрированы в гипоталамусе, стриатуме и прилежащем ядре (рис. 2–6).

Установлено, что фактор “Алкоголь” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 5.288, p = 0.029$) и в прилежащем ядре ($F(1, 31) = 6.766, p = 0.014$) оказывал существенное влияние на изменение содержания ГАМК в мозге крыс. Фактор “Селанк” оказывал влияние на изменение содержания ГАМК в мозге крыс в прилежащем ядре ($F(1, 31) = 8.809, p = 0.006$). Не установлено взаимодействие факторов “Селанк” и “Алкоголя” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 1.152, p = 0.292$), в прилежащем ядре ($F(1, 31) = 0.145, p = 0.706$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.773, p = 0.386$). Отмечено статистически значимое увеличение содержания ГАМК в гипоталамусе и прилежащем ядре по сравнению с контрольной группой, не имевшей доступа к этанолу ($p < 0.05$). На фоне

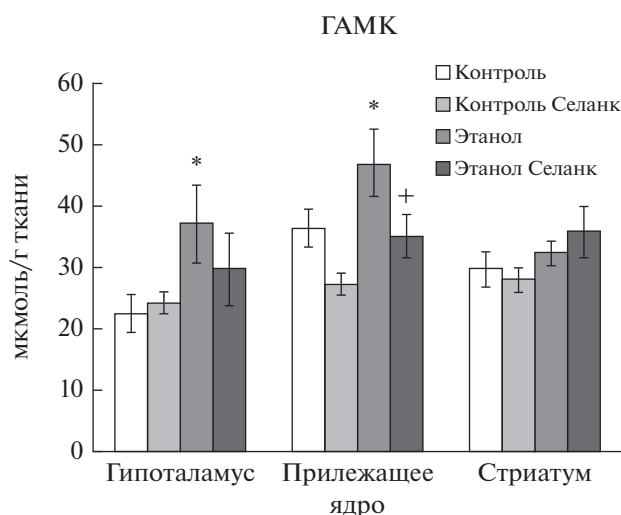


Рис. 2. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на содержание ГАМК в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * $p < 0.05$ по отношению к группе “Контроль”; + $p < 0.05$ по отношению к группе “Этанол”; для соответствующей структуры мозга.

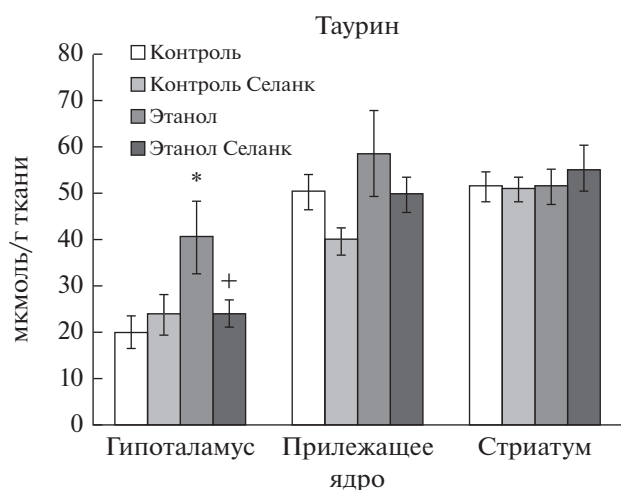


Рис. 4. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на содержание таурина в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * $p < 0.05$ по отношению к группе “Контроль”; + $p < 0.05$ по отношению к группе “Этанол”; для соответствующей структуры мозга.

действия селанка у крыс, подверженных действию этанола, уровень ГАМК в прилежащем ядре не превышал значения контрольной группы (рис. 2).

Фактор “Алкоголь” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 5.092, p = 0.032$) и в стриатуме ($F(1, 29) = 4.546, p = 0.042$) оказывал существенное влияние на из-

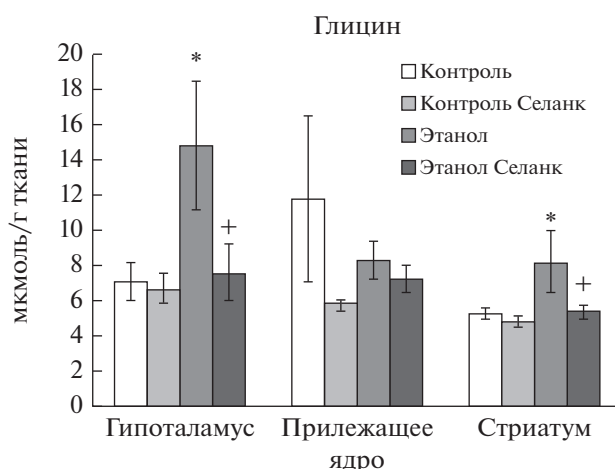


Рис. 3. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на содержание глицина в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * $p < 0.05$ по отношению к группе “Контроль”; + $p < 0.05$ по отношению к группе “Этанол”; для соответствующей структуры мозга.

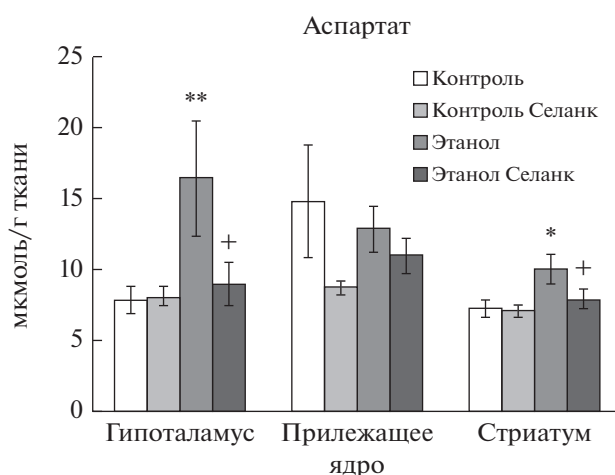


Рис. 5. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на содержание аспартата в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ по отношению к группе “Контроль”; + $p < 0.05$ по отношению к группе “Этанол”; для соответствующей структуры мозга.

менение содержания глицина в мозге крыс. Значения влияния фактора “Селанк” на содержание глицина составили в гипоталамусе ($F(1, 28) = 3.973, p = 0.056$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 2.015, p = 0.165$) и стриатуме ($F(1, 29) = 3.965, p = 0.056$). Не установлено взаимодействие факторов “Селанка” и “Алкоголя” на содержание глицина в гипоталамусе ($F(1, 28) = 3.225, p = 0.083$), в приле-

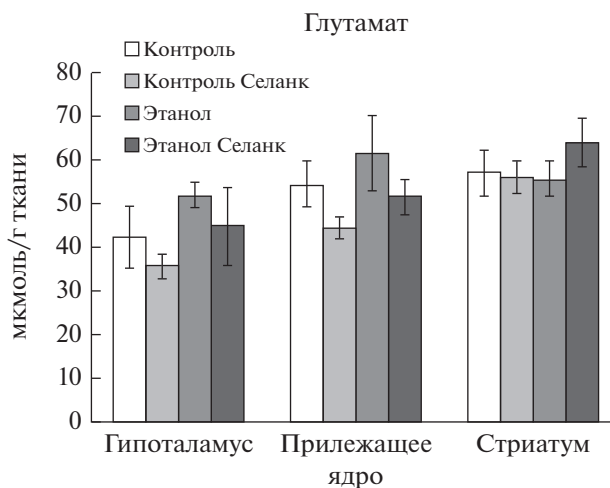


Рис. 6. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на содержание глутамата в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$.

жщем ядре ($F(1, 35) = 0.968, p = 0.332$) и стриатуме ($F(1, 29) = 1.822, p = 0.188$). Хроническое потребление крысами раствора этанола с последующей депривацией вызывало значительное повышение уровня глицина в гипоталамусе и стриатуме ($p < 0.05$). Селанк в анксиолитической дозе статистически значимо снижал ($p < 0.05$) величину этого показателя до значений контрольной группы (рис. 3).

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа не выявлено влияния фактора “Алкоголь” на содержание таурина в гипоталамусе ($F(1, 28) = 4.177, p = 0.051$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 2.945, p = 0.095$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.347, p = 0.560$), а также фактора “Селанк” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 1.562, p = 0.222$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 3.383, p = 0.074$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.199, p = 0.658$). Также не установлено взаимодействие факторов “Селанка” и “Алкоголя” на содержание таурина в гипоталамусе ($F(1, 28) = 4.077, p = 0.053$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 0.028, p = 0.868$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.342, p = 0.563$). Содержание таурина, выполняющего в ЦНС функцию тормозного нейротрансмиттера, также возрастало в гипоталамусе в условиях алкогольной депривации – $p < 0.05$ согласно критерию Дункана по сравнению с контролем. Селанк, как и в случае с другими тормозными аминокислотами, выполнял модулирующую роль, снижая ($p < 0.05$) величину данного показателя до уровня соответствующего параметра контрольной группы животных (рис. 4).

Установлено, что фактор “Алкоголь” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 5.596, p = 0.025$) и в стриатуме ($F(1, 29) = 8.468, p = 0.007$) оказывал существенное влияние на изменение содержания аспартата в мозге крыс. Фактор “Селанк” не оказывал влия-

ние на изменение содержания аспартата в гипоталамусе, прилежащем ядре и стриатуме. Не установлено взаимодействие факторов “Селанка” и “Алкоголя” на содержание возбуждающей аминокислоты аспартата в гипоталамусе ($F(1, 28) = 3.754, p = 0.063$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 0.830, p = 0.368$) и стриатуме ($F(1, 29) = 2.244, p = 0.145$). Отмена этанола у этанол-предпочитающих крыс вызывала резкое увеличение содержания аспартата, выполняющей роль нейромедиатора в ЦНС, в гипоталамусе и стриатуме ($p < 0.01, p < 0.05$ соответственно). Селанк устранял это возрастание, снижая величину показателей до контрольных значений (рис. 5).

Фактор “Алкоголь” и “Селанка” не оказывали влияния на изменения содержания глутамата в гипоталамусе, прилежащем ядре и стриатуме. Не установлено взаимодействие факторов “Селанка” и “Алкоголя” в гипоталамусе ($F(1, 28) = 0.002, p = 0.966$), в прилежащем ядре ($F(1, 35) = 0.000, p = 0.991$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.997, p = 0.325$). Характерное для алкогольной абстиненции увеличение содержания глутамата в прилежащем ядре и гипоталамусе оказалось в нашем эксперименте статистически незначимым ($p > 0.05$) (рис. 6).

Фактор “Алкоголь” ($F(1, 33) = 7.844, p = 0.009$) оказывал влияние на изменение отношения ГАМК/глутамат в стриатуме. Фактор “Селанк” не оказывал влияние на изменение отношения ГАМК/глутамат в гипоталамусе, прилежащем ядре и стриатуме. Не установлено взаимодействие факторов “Селанка” и “Алкоголя” на изменение отношения ГАМК/глутамат в гипоталамусе ($F(1, 28) = 0.465, p = 0.501$), в прилежащем ядре ($F(1, 31) = 0.163, p = 0.690$) и стриатуме ($F(1, 33) = 0.111, p = 0.742$) (рис. 7).

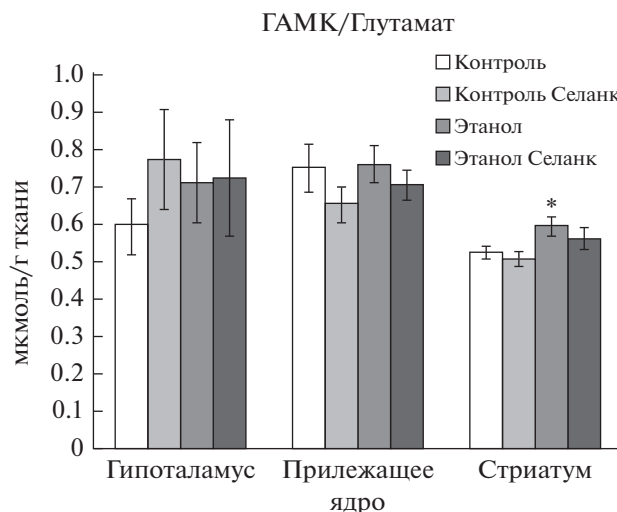


Рис. 7. Влияние селанка в дозе 0.3 мг/кг на соотношение ГАМК/глутамата в структурах мозга алкоголизованных и неалкоголизованных крыс. $M \pm SEM$. Примечание: Множественные сравнения с использованием критерия Дункана: * $p < 0.05$ по отношению к группе “Контроль” для соответствующей структуры мозга.

Таким образом, селанк при субхроническом введении в анксиолитической дозе препятствовал индуцированному отменой этанола повышению содержания тормозных нейромедиаторных аминокислот глицина и таурина в гипоталамусе, ГАМК в прилежащем ядре и глицина в стриатуме, а также снижал уровень аспартата в гипоталамусе и стриатуме.

Одной из основных целей фармакотерапии при лечении алкогольной абстиненции является восстановление нарушенного баланса между возбуждающей и тормозной нейропередачей. В настоящей работе нами было показано, что в постинтоксикационный (абстинентный) период уровень ГАМК в прилежащем ядре существенно превышает контрольные значения, тогда как содержание глутамата в изученных структурах мозга животных не отличалось от соответствующих показателей крыс, не имевших доступа к этанолу. Согласно результатам исследования, проведенного с помощью техники микродиализа, отмена потребления этанола у зависимых животных вызывала увеличение концентрации глутамата в стриатуме, прилежащем ядре и гиппокампе через 5–8 ч после прекращения вдыхания паров этанола, достигая максимального значения через 12 ч в прилежащем ядре [15]. В нашей работе не было выявлено снижения уровня глутамата в префронтальной коре и прилежащем ядре, обнаруженного в работе [16]. Различия в полученных результатах, по-видимому, объясняются более длительным периодом лишения животных этанола (7 сут) в соответствии с выбранным дизайном исследования, нейрохимические изменения при котором значительно отличаются от описанных ранее сдвигов в балансе нейромедиаторных аминокис-

лот и моноаминов после отмены этанола. Нельзя исключить также влияния повышенного содержания тормозной аминокислоты таурина на относительно низкий уровень глутамата, поскольку, по данным литературы, в условиях отмены этанола таурин препятствует увеличению глутамата в прилежащем ядре у этанол-зависимых крыс за счет блокады его высвобождения [17].

Наряду с этим, при отмене этанола отмечалось повышение содержания другой тормозной аминокислоты – глицина. Так, отмечался рост уровня глицина в гипоталамусе и стриатуме (в 2.1 и 1.5 раза соответственно) по сравнению с интактными крысами, что согласуется с наблюдениями Griffiths и Littleton (1977) на мышах, формирование алкогольной зависимости у которых осуществлялось с помощью паров этанола [18].

Принимая во внимание отставленные по времени поведенческие проявления синдрома отмены, в настоящей работе дизайн эксперимента предусматривал субхроническое введение в течение 7 сут пептидного аналога тафтсина селанка как возможного корректора негативных проявлений алкогольной абстиненции. Селанк восстанавливал содержание глицина у крыс, получавших этанол, до значений контрольных животных в гипоталамусе и стриатуме. В работе Kotlinska и Liljequist (1996) антагонист глициновых рецепторов L-701,324 купировал спровоцированные отменой этанола аудиогенные судороги у крыс Sprague-Dawley [19], что также подтверждает роль глицина в формировании физиологических нарушений при синдроме отмены алкоголя.

Наблюдавшееся нами увеличение уровня таурина в структурах мозга алкоголизованных крыс находит косвенное подтверждение в работе

Nashed, Chatterjee et al., выполненной методом микродиализа, отмечавших сходное возрастание содержания этой аминокислоты в прилежащем ядре мышей DBA/2J с низким уровнем двигательной активности после субхронического (5 дней) введения алкоголя (2.2 г/кг), 14-дневной паузы и финального введения этанола. У высокоактивных животных такого возрастания не наблюдалось [20].

Аспартат (аспарагиновая кислота) также как и глутамат выполняет в ЦНС функции возбуждающего медиатора. Несмотря на то, что по химической структуре она очень близка к глутаминовой кислоте и действует на те же рецепторы, содержание аспартата относительно невелико, и большинство авторов не упоминает каких-либо изменений содержания этого вещества в структурах мозга при моделировании алкоголизма. Известна только одна достаточно недавняя работа, в которой описано возрастание концентрации аспартата в среднем мозге в различных экспериментальных условиях [21].

Из данных литературы известно о существовании так называемого “ГАМК-шунта”, являющегося альтернативой циклу трикарбонных кислот. При этом задействуется механизм образования глутамата из α -кетоглутарата, при декарбоксилировании которого, в свою очередь, образуется ГАМК. Подобные механизмы наиболее ярко проявляются в глутамат- и ГАМК-ергических нейронах и окружающих их астроцитах [22]. Можно предположить, что подобный вариант образования ГАМК в стриатуме животных при отмене этанола мог быть задействован в наших экспериментах.

Таким образом, нормализация селанком уровня аминокислот в разных отделах мозга может быть связана с патофизиологическими нарушениями при отмене этанола. Нейрохимические исследования у животных изменений содержания различных нейротрансмиттерных аминокислот после длительной алкоголизации, прерывающейся периодами депривации этанола разной продолжительности, могут иметь практическое значение для разработки новых стратегий лечения алкогольной зависимости.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена по теме № 0521-2019-0006.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Организация и проведение работ осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 г. “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Животные содержались в соответствии с СП

2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” от 29 августа 2014 г. № 51. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В.В. Закусова”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Witte P. // *Addict. Behav.* 2004. V. 29. № 7. P. 1325–1339.
2. George O., Sanders C., Freiling J., Grigoryan E., Vu S., Allen CD., Crawford E., Mandym C.D., Koob G.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. № 44. P. 18156–18161.
3. Amato L., Minozzi S., Davoli M. // *The Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2011. CD008537.
4. Liang J., Olsen R.W. // *Acta Pharmacologica Sinica.* 2014. V. 35. P. 981–993.
5. Chau P., Höjfdt-Lidö H., Löf E., Söderpalm B., Ericson M. // *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2010. V. 34. № 1. P. 39–45.
6. Perkins D.I., Trudell J.R., Crawford D.K., Alkana R.L., Davies D.L. // *Pharmacol. Ther.* 2010. V. 127. № 1. P. 53–65.
7. Stavro K., Pelletier J., Potvin S. // *Addict. Biol.* 2013. V. 18. № 2. P. 203–213.
8. Irimia C., Wiskerke J., Natividad L.A., Polis I.Y., de Vries T.J., Pattij T., Parsons L.H. // *Addict. Biol.* 2015. V. 20. № 2. P. 263–274.
9. Лелевич С.В. // Эксперим. клин. фармакол. 2012. Т. 75. № 3. С. 26–30.
10. Телешова Е.С., Бочкарев В.К., Сюняков Т.С., Бугаева Т.П., Незнамов Г.Г. // *Психиатрия.* 2010. Т. 46. № 4. С. 26–35.
11. Надорова А.В., Колик Л.Г., Клодт П.М., Наркевич В.Б., Наплёкова П.Л., Козловская М.М., Кудрин В.С. // *Нейрохимия.* 2014. Т. 31. № 2. С. 1–7.
12. Колик Л.Г., Надорова А.В., Антипова Т.А., Круглов С.В., Кудрин В.С., Дурнев А.Д. // *Бюлл. Экспер. биол. и мед.* 2019. Т. 167. № 5. С. 581–585.
13. Наркевич В.Б., Клодт П.М., Кудрин В.С., Майский А.И., Раевский К.С. // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2007. Т. 7. № 2. С. 1563–1567.
14. Колик Л.Г., Надорова А.В., Козловская М.М. // *Бюлл. экспер. биол.* 2014. Т. 157. № 1. С. 61–65.
15. Dahchour A., De Witte P. // *Prog. Neurobiol.* 2000. V. 60. № 4. P. 343–362.
16. Das S.C., Althobaiti Y.S., Alshehri F.S., Sari Y. // *Behav. Brain. Res.* 2016. V. 303. P. 120–125.
17. Dahchour A., De Witte P. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000. V. 65. № 2. P. 345–350.
18. Griffiths P.J., Littleton J.M. // *Br. J. Exp. Pathol.* 1977. V. 58. № 1. P. 19–27.
19. Kollinska J., Liljequist S. // *Psychopharmacology (Berl.).* 1996. V. 127. № 3. P. 238–244.
20. Nashed M., Chatterjee D., Nguyen D., Oleinichenko D., Diwan M., Nobrega J.N. // *Psychopharmacology (Berl.).* 2019. V. 236. № 12. P. 3541–3556.
21. Гуца В.К., Лелевич С.В., Шейбак В.М. // *Биохимия. Прил. серия Б: Биомед. Хим.* 2019. Т. 13. № 2. С. 154–161.
22. Shelp B. // *Trends in Plant. Sci.* 1999. V. 4. № 11. P. 446–452.

Heptapeptide Analogue of Tuftsin Prevents the Increase in the Content of Inhibitory Neurotransmitter Amino Acids in the Brain When Modeling Alcohol Withdrawal in Rats

L. G. Kolik^a, A. V. Nadorova^a, V. G. Kon'kov^a, V. B. Narkevich^a, and V. S. Kudrin^a

^a*Federal State Budgetary Institution "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia*

In mammals brain chronic alcohol exposure leads to a breakdown in the ratio of excitatory and inhibitory neurotransmitter amino acids, including a decrease in GABAergic inhibitory function and an increase in glutamatergic excitatory activity in alcohol withdrawal, which often becomes a driving force for the revival of alcohol consumption. Previously the effectiveness of heptapeptide tuftsin analog selank against ethanol withdrawal anxiety and memory impairments induced by chronic alcohol intake was shown in rats. In order to study the selank neurochemical mechanism in alcohol withdrawal model, the selank effect on the content of neurotransmitter amino acids in certain brain structures was evaluated in rats. The experiments were performed on mongrel male rats consumed 10% ethanol solution as the only source of liquid for 30 weeks. During ethanol exposure a subgroup of animals with a high level of motivation to consume alcohol was identified, and the main part of the work was carried out on these rats. Selank in an anxiolytic dose of 0.3 mg/kg was administered intraperitoneally for 7 days during ethanol withdrawal. Decapitation was performed 24 h after the last injection. In *ex vivo* experiments using HPLC/FD it was shown that selank prevented the ethanol withdrawal induced increase in the content of aspartic acid, glycine and taurine in the hypothalamus, GABA in the *n. accumbens* and aspartic acid and glycine in the striatum. The obtained data indicate that in alcohol deprivation period selank pharmacological effect is associated with a decrease in the level of inhibitory neurotransmitter amino acids.

Keywords: selank, ethanol, neurotransmitter amino acids, hypothalamus, nucleus accumbens, striatum, rats, HPLC

УДК 616.8

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БОКОВОМ АМИОТРОФИЧЕСКОМ СКЛЕРОЗЕ

© 2021 г. М. В. Иванова^{1, *}, А. С. Воронкова¹, В. С. Сухоруков¹, М. Н. Захарова¹

¹ФГБНУ “Научный центр неврологии”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 31.12.2020 г.

После доработки 05.01.2021 г.

Принята к публикации 06.01.2021 г.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся неуклонно прогрессирующей гибелью двигательных нейронов головного и спинного мозга. Заболевание является неизлечимым и неминуемо приводит к гибели больного, в среднем, в течение 3–5 лет. Механизмы инициации, прогрессирования и распространения патологического процесса до сих пор неясны. Считается, что воспалительные реакции могут иметь важное значение в прогрессировании заболевания, но их значение до конца не ясно. Нами проведен мультиплексный анализ экспрессии генов нейровоспаления в мононуклеарных клетках периферической крови у пациентов с различными темпами прогрессирования БАС ($n = 22$) в сравнении со здоровыми добровольцами. Выявлено 14 генов (*BAX, CLN3, PLEKHM1, AKT1, LAMP1, RAC2, VAV1, MPG, TFG, BRD2, CSK, MSN, GBA, VIM*), экспрессия которых различалась между пациентами с БАС и здоровыми добровольцами ($p < 0.05$; $q < 0.05$). Среди них преобладали гены, связанные с аутофагией, апоптозом, приобретенным иммунитетом и каскадами факторов роста. Существенных различий экспрессии генов между пациентами с быстрыми и медленными темпами прогрессирования БАС не определялось. Была выделена подгруппа пациентов с БАС с профилем экспрессии генов нейровоспаления, существенно отличавшимся от других пациентов с БАС (по 208 генам) и здоровых добровольцев (по 262 генам) ($p < 0.05$; $q < 0.05$). Полученные данные могут говорить о значимости не только центральных, но и периферических воспалительных реакций в развитии патологического процесса при БАС.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, нейровоспаление, нейродегенерация, апоптоз, аутофагия, приобретенный иммунитет, темпы прогрессирования, мультиплексный анализ экспрессии

DOI: 10.31857/S1027813321020072

Боковой амиотрофический склероз (БАС) представляет собой нейродегенеративное заболевание, характеризующееся неуклонно прогрессирующей гибелью двигательных нейронов, приводящей к развитию спастико-атрофических поражений, скелетной мускулатуры. Медиана возраста дебюта БАС составляет 55 лет, растет заболеваемость и среди лиц молодого возраста [1], что, возможно, в определенной мере может объясняться ухудшением экологической обстановки. Заболевание дебютирует, как правило, на одном анатомическом уровне, после чего патологический процесс постепенно распространяется, в конечном итоге вовлекая жизненно-важную дыхательную мускулатуру и приводя на протяжении, в среднем, 3–5 лет к гибели больного [2]. Темпы прогрессирования па-

тологического процесса при БАС очень разнородны. Длительное время отечественными и зарубежными [3] учеными ведется поиск диагностических и прогностических маркеров заболевания, однако этот вопрос остается нерешенным, что создает затруднения для принятия решений по планированию жизни пациентом. Эффективных методов лечения к настоящему моменту не разработано.

Механизмы инициации, прогрессирования и распространения патологического процесса до сих пор не выяснены. По современным представлениям, существенную роль играют генетические факторы. 5–15% случаев БАС являются семейными, остальные спорадическими, однако и при них нередко выявляются потенциально патогенные мутации [4]. Среди патофизиологических явлений, имеющих значение в развитии БАС, ведущее место занимают нарушение гомеостаза белков с накоплением патологических белковых агрегатов

* Адресат для корреспонденции: 125367 Россия, Москва, Волоколамское ш., 80, тел.: 8(495)490-24-10, e-mail: fspubl@gmail.com.

и нарушение процессинга РНК. Также определенную патогенетическую роль играют нарушение динамики цитоскелета, структуры и функции аксонов, эндосомального транспорта, репарации ДНК, аутофагии, эксайтотоксичность, окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, активация микроглии и, наконец, нейровоспаление [5].

Считается, что нейровоспаление имеет важное значение в ходе прогрессирования патологического процесса при БАС. Развивающиеся на начальных этапах БАС преимущественно протективные противовоспалительные реакции по мере прогрессирования заболевания сменяются токсическими провоспалительными [6]. Тем не менее, механизмы нейровоспаления, имеющие ключевое значение при БАС на настоящий момент мало изучены.

Учитывая вышесказанное, изучение экспрессии генов нейровоспаления при БАС и их вклада в прогрессирование и распространение патологического процесса может способствовать выявлению новых диагностических и прогностических биомаркеров, а также мишеней для терапевтического воздействия. Целью настоящего исследования был мультиплексный анализ экспрессии генов, связанных с широким спектром процессов, относящихся к нейровоспалению, у пациентов с различными темпами прогрессирования БАС в сравнении со здоровыми добровольцами.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты. Критериями включения были: диагноз БАС согласно переработанным критериям El Escorial [7], возраст старше 20 лет, быстрые или медленные темпы прогрессирования заболевания (см. далее), бульбарная, шейно-грудная или пояснично-крестцовая формы БАС, наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения были: наличие хронических воспалительных заболеваний, онкологической патологии, других неврологических заболеваний, острое инфекционное заболевание в течение месяца до включения в исследование, прием препаратов, действующих на иммунную систему (кортикостероиды, цитостатики и др.). На основании критериев исключения в группу не вошли 7 пациентов, потенциально подходивших по критериям включения. Один пациент был исключен из анализа в связи с тем, что не пройден контроль качества при анализе экспрессии генов нейровоспаления. В результате в исследовании приняли участие 22 пациента с БАС и 12 здоровых добровольцев. Пациенты были набраны в 2 подгруппы, в зависимости от темпов прогрессирования заболевания в течение 12 месяцев до включения в исследования: 1. медленно прогрессирующие – снижение балла по шкале функциональной оценки при БАС ALS-FRS-R не более 2 баллов; быстро прогрессирующие – снижение балла по шкале

ALS-FRS-R на 10 и более. Пациенты не страдали хроническими аутоиммунными, инфекционными и онкологическими заболеваниями, не переносили острых инфекций по крайней мере в течение месяца до включения в исследование.

Выделение РНК. РНК была выделена из мононуклеарных клеток периферической крови (РВМС). Забор крови производился в пробирки BD Vacutainer с ЭДТА (BD, USA), материал обрабатывался в течение часа после забора. РВМС выделяли с помощью градиента плотности с использованием фиколла Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, USA). Образцы крови были аккуратно нанесены на слой фиколла в пробирке объемом 15 мл. Пробирки были центрифугированы при 400 g в течение 30 мин при комнатной температуре. Полученный в результате центрифугирования слой РВМС переносился в стерильную пробирку и отмывался в 10 мл фосфатного буфера (1% FBS), после чего центрифугировался в течение 10 мин при 300 g. Надосадок удалялся, клетки ресуспендировались в 1 мл клеточной среды RPMI и считались. Аликвоты по $3-5 \times 10^6$ РВМС были заморожены при -80°C до изоляции РНК. РНК была изолирована из одной аликвоты с помощью набора для выделения РНК Total RNA Purification Plus Kit (Norgern Biotek, Canada) согласно инструкции производителя. Концентрация РНК измерялась с помощью NanoDrop2000C (ThermoScientific) и корректировалась до 60 нг/мкл с помощью вакуумного концентратора. Соотношение $\text{OD}_{260/280}$ для всех образцов составляло 1.72–2.10. Образцы РНК хранились до использования при -80°C , но не более 1 мес.

Мультиплексный анализ экспрессии генов нейровоспаления. Анализ экспрессии генов нейровоспаления проводился с помощью методики NanoString (NanoString Technologies, WA). Технология основана на уникальном прямом баркодировании целевой РНК с помощью флуоресцентных проб. В нашем исследовании была использована стандартная панель генов нейровоспаления nCounter Human Neuroinflammation panel, состоящая из 770 генов, включая 758 сигнатурных генов и 12 конститутивных генов. Образцы анализировались на приборе nCounter Analysis System (NanoString Technologies) согласно инструкции производителя. Каждый образец содержал по меньшей мере 300 нг РНК. Первичная обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения nSolver package (version 4.0). Нормализация первичных данных проводилась по 6 положительным контролям и 12 конститутивным генам, включенным в панель. Фон оценивался по 6 отрицательным контролям, также присутствующим в панели. Для дальнейшего анализа экспрессии использовался модуль Advanced Analysis module. Данные, полученные с помощью системы nCounter,

Таблица 1. Клиническая характеристика групп

Параметр	Все пациенты с БАС ($n = 22$)	Быстрое прогрессирующее ($n = 11$)	Медленное прогрессирующее ($n = 11$)	Здоровые добровольцы ($n = 12$)
Возраст, Ме [Q1;Q3]	52.5 [45.2; 64.5]	57 [49; 69]	51 [36.5; 56]	49.5 [41.25; 56]
Пол, М/Ж, %	50/50	63.6/36.4	36.4/63.6	42/52
Длительность заболевания, Ме [Q1;Q3]	18.5 [14.2; 37.5]	15 [9; 18]	36 [19; 48.5]	—
Стадия заболевания (2/3/4)	8/7/7	0/4/7	8/3/0	—
Форма (Б/ШГ/ПК)	5/12/5	4/6/1	1/6/4	—
ALSFRS-R	38 [35; 43.5]	35 [24.5; 37]	44 [41; 44.5]	—
ЖЕЛ (%ДЖЕЛ), Ме [Q1;Q3]	89.8 [69.4; 100.8]	70.2 [60; 99.7]	95 [81.6; 101]	—
ИМТ, Ме [Q1;Q3]	27.2 [23.5; 35.2]	25.7 [21.3; 35.7]	29.8 [26.3; 31.4]	—

Сокращения: Ме – медиана, Q1 – квартиль 1, Q3 – квартиль 3, n – число пациентов, М – мужчины, Ж – женщины, Б – бульбарная форма, ШГ – шейно-грудная форма, ПК – пояснично-крестцовая форма, ЖЕЛ – жизненная емкость легких, ДЖЕЛ – должная жизненная емкость легких, ИМТ – индекс массы тела.

выражены в условных единицах, отражающих концентрацию целевых молекул РНК в образце. Образцы были заслеплены: экспериментатор не знал о принадлежности образцов пациентам определенных групп.

Статистическая обработка данных. Статистическая обработка данных проводилась с помощью IBM SPSS Statistics 23 и GraphPad Prism 8. Данные были заслеплены: клинические характеристики и принадлежность к той или иной группе были закодированы, экспериментатор не имел доступа к данным о пациентах во время статистического анализа. Для анализа использовались Log₂-данные. Проверка на нормальность распределения проводилась с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Поскольку проверка на нормальность подтвердила нормальное распределение данных внутри групп здоровых добровольцев (0), пациентов с медленным прогрессирующим и быстрым прогрессирующим БАС, а также внутри групп пациентов с профилями экспрессии 1 и 2, для выявления дифференциально экспрессируемых генов (ДЭГ) в этих группах применялся однофакторный дисперсионный анализ с проведением поправки на пол и возраст. Критерием выявления ДЭГ было значение $p < 0.05$. Для исключения ложноположительных результатов проводилась поправка на множественность сравнений Бенъямини–Хохберга (показатель q), пороговым значением для выявления ДЭГ было значение $q < 0.05$. Для ДЭГ был проведен *post-hoc* анализ с попарными сравнениями между группами и поправкой Бонферрони. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Для выявления корреляций между экспрессией генов и клиническими характеристиками заболевания был использован коэффициент ранговой корреляции

Спирмена. Корреляции считались значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика пациентов. В исследование были включены 22 пациента с БАС: 11 с быстрыми темпами прогрессирования за последний год (снижение по ALSFRS-R на более 10 баллов), 11 с медленными темпами прогрессирования (снижение балла по ALSFRS-R за год на 1–2 балла) и 12 здоровых добровольцев. Клиническая характеристика групп исследования представлена в табл. 1. Статистически значимых различий по полу, возрасту, частоте встречаемости различных форм заболевания, жизненной емкости легких (ЖЕЛ), индексу массы тела (ИМТ) между группами не выявлено. В группе пациентов с быстрым темпом прогрессирования была отмечена меньшая длительность заболевания ($p = 0.002$), ниже значение балла по шкале ALSFRS-R ($p < 0.001$) и большее значение стадии заболевания ($p < 0.001$), что говорит о худшем функциональном состоянии пациентов этой группы. В группе пациентов с быстрым темпом прогрессирования было большее количество больных с бульбарной формой и меньшее количество пациентов с пояснично-крестцовой формой, чем в группе с медленным темпом прогрессирования, что представляется логичным, поскольку дебют заболевания с бульбарных нарушений считается прогностически неблагоприятным [7]. Тем не менее, в связи с общностью патофизиологических процессов, анатомический уровень, на котором дебютировало заболевание не влияет на однородность групп и статистическую обработку результатов.

Экспрессия генов нейровоспаления у пациентов с БАС. Различия экспрессии генов нейровоспале-

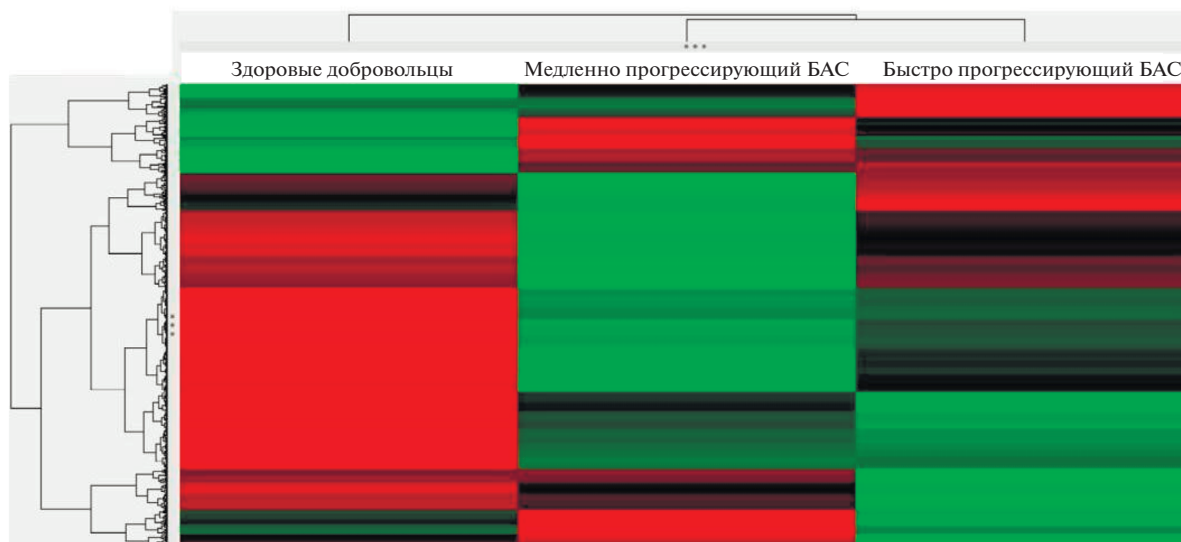


Рис. 1. Экспрессия генов нейровоспаления в группах пациентов с БАС и здоровых добровольцев. В столбцах представлены усредненные значения экспрессии генов групп пациентов: 0 – здоровые добровольцы; 1 – пациенты с медленным прогрессированием БАС в последние 12 мес.; 2 – пациенты с быстрым прогрессированием БАС в последние 12 мес. Строки представляют уровень экспрессии отдельных генов: черный – среднее значение экспрессии по общей выборке пациентов; красный – повышенный уровень экспрессии по сравнению со средним; зеленый – пониженный уровень экспрессии.

ния были визуализированы с помощью тепловой карты, согласно которой есть большой пул генов, различающихся у здоровых добровольцев и пациентов с БАС. Также видны группы генов, различающихся по экспрессии между пациентами с различными темпами прогрессирования БАС (рис. 1). Однако при проведении статистического анализа различий экспрессии генов нейровоспаления в группах пациентов с быстрым и медленным течением БАС и здоровыми добровольцами было выявлено всего 14 генов со статистически значимым различием экспрессии: *BAX*, *CLN3*, *PLEKHM1*, *AKT1*, *LAMP1*, *RAC2*, *VAV1*, *MPG*, *TFG*, *BRD2*, *CSK*, *MSN*, *GBA*, *VIM* (табл. 2). Наиболее широко представленными функциональными группами со статистически значимым различием экспрессии были гены, связанные с аутофагией (*CLN3*, *AKT1*, *LAMP1*, *RAC2*, *VAV1*, *CSK*, *MSN*), апоптозом (*BAX*, *AKT1*, *TFG*, *GBA*), приобретенным иммунитетом и факторами роста (*AKT1*, *RAC2*, *VAV1*, *CSK*). Парное сравнение групп показало, что экспрессия всех указанных генов, кроме *BRD2*, различается между пациентами с БАС и здоровыми добровольцами, но не между пациентами с быстрым и медленным темпами прогрессирования БАС. Экспрессия гена *BRD2* была повышена в группе пациентов с быстрым прогрессированием заболевания, по сравнению с пациентами с медленным прогрессированием БАС и здоровыми добровольцами. Ген *BRD2* функционально относится к генам, связанным с эпигенетическим регулированием. Ранее *BRD2* не был ассоциирован с БАС, его связывали с развитием

нервной системы в процессе эмбриогенеза, с ювенильной миоклонической эпилепсией, ожирением и определенными гемобластомами [8–10].

Корреляции экспрессии генов нейровоспаления с клиническими характеристиками. В ходе корреляционного анализа были проанализированы взаимосвязи экспрессии генов нейровоспаления с клиническими характеристиками заболевания у 22 пациентов с БАС, принявших участие в исследовании. Была выявлена статистически значимая умеренная положительная ($r = 0.5–0.75$) корреляция экспрессии генов *BRD2* ($r = 0.535$, $p = 0.01$), связанного с эпигенетической регуляцией, и *FYN* ($r = 0.575$, $p = 0.005$), участвующего в каскадах врожденного и приобретенного иммунитета, функционировании микроглии, факторов роста, ангиогенеза и аутофагии, со стадией заболевания. Значение балла по шкале ALSFRS-R имело умеренную отрицательную корреляцию с экспрессией генов *KDM3A* ($r = -0.623$, $p = 0.002$), связанного с эпигенетической регуляцией, *PILRB* ($r = -0.512$, $p = 0.015$), участвующего в реакциях врожденного иммунитета, и *TSPAN18* ($r = -0.529$, $p = 0.011$), связанного с функционированием микроглии; уменьшение балла по шкале ALSFRS-R за последние 12 мес. имело положительную корреляцию с экспрессией *BRD2* ($r = 0.588$, $p = 0.004$), *CTSW* ($r = 0.526$, $p = 0.012$), секретируемого цитотоксическими клетками, и *KDM3A* ($r = 0.542$, $p = 0.009$). Наибольшее количество статистически значимых корреляций было выявлено между экспрессией генов нейровоспаления и длительно-

Таблица 2. Дифференциально экспрессируемые гены у пациентов с БАС и здоровых добровольцев

Ген	Группа	Среднее	Стандартная ошибка среднего	Fold Change	F(ANOVA)	<i>p</i>	<i>q</i>
<i>BAK</i>	0	1065.54	38.03	1	20.21	0.0000024	0.001596
	1	1357.79	42.59	1.27			
	2	1449.79	58.98	1.36			
<i>CLN3</i>	0	87.02	6.57	1	17.97	0.0000066	0.0021945
	1	142.04	10.18	1.63			
	2	141.30	8.66	1.62			
<i>PLEKHM1</i>	0	265.07	15.49	1	16.63	0.0000124	0.0027487
	1	364.52	19.43	1.38			
	2	393.70	18.99	1.49			
<i>AKT1</i>	0	363.47	18.59	1	12.97	0.0000808	0.0107255
	1	508.90	33.61	1.40			
	2	529.28	31.61	1.46			
<i>LAMP1</i>	0	1274.60	57.47	1	12.74	0.0000917	0.0107255
	1	1665.57	87.34	1.31			
	2	1720.85	76.17	1.35			
<i>RAC2</i>	0	1393.33	85.17	1	12.55	0.0001017	0.0107255
	1	1896.25	122.81	1.36			
	2	1975.77	82.79	1.42			
<i>VAV1</i>	0	899.20	32.32	1	12.36	0.0001129	0.0107255
	1	1085.42	29.45	1.21			
	2	1072.64	29.86	1.19			
<i>MPG</i>	0	172.94	8.72	1	12.02	0.0001364	0.0113383
	1	217.20	10.56	1.26			
	2	235.33	9.04	1.36			
<i>TFG</i>	0	339.05	9.70	1	11.02	0.0002423	0.0165718
	1	410.41	17.44	1.21			
	2	425.99	16.53	1.26			
<i>BRD2</i>	0	2109.94	94.99	1	10.97	0.0002492	0.0165718
	1	2307.51	65.45	1.09			
	2	2665.99	89.24	1.26			
<i>CSK</i>	0	2296.49	93.43	1	10.32	0.0003678	0.0222352
	1	2799.89	78.46	1.22			
	2	2763.49	97.28	1.20			
<i>MSN</i>	0	5692.86	234.16	1	9.85	0.0004879	0.0269683
	1	6905.87	246.57	1.21			
	2	6950.10	220.10	1.22			
<i>GBA</i>	0	514.01	35.32	1	9.72	0.0005272	0.0269683
	1	696.76	25.83	1.36			
	2	678.12	27.54	1.32			
<i>VIM</i>	0	10900.21	529.63	1	8.74	0.0009768	0.046398
	1	13737.53	694.63	1.26			
	2	15899.32	1440.21	1.46			

Условные обозначения: 0 – здоровые добровольцы, 1 – медленно прогрессирующее течение БАС, 2 – быстро прогрессирующее течение БАС. Данные выражены в условных единицах, отражающих концентрацию целевых молекул РНК в образце.

стью заболевания. Экспрессия генов *C6* ($r = 0.547$, $p = 0.008$), *CCNG2* ($r = 0.514$, $p = 0.014$), *CD47* ($r = 0.543$, $p = 0.009$), *CLDN5* ($r = 0.501$, $p = 0.017$), *CLIC4* ($r = 0.628$, $p = 0.002$), *COA5* ($r = 0.501$, $p = 0.018$), *COL6A3* ($r = 0.527$, $p = 0.012$), *DNA2* ($r = 0.510$, $p = 0.015$), *ESAM* ($r = 0.525$, $p = 0.012$), *IKBKB* ($r = 0.516$, $p = 0.014$), *PROS1* ($r = 0.651$, $p = 0.001$), *RAB6B* ($r = 0.629$, $p = 0.002$), *TMEM64* ($r = 0.675$, $p = 0.001$) положительно коррелировала с длительностью заболевания. Среди них наиболее широко представлены гены, связанные с активацией микроглии и ремоделированием матрикса. Экспрессия *DBP2*, связанным с повреждением ДНК, имела отрицательную корреляцию с длительностью заболевания.

Воспалительный профиль экспрессии у части пациентов. При анализе тепловой карты и вулканических диаграмм экспрессии генов нейровоспаления пациентов с БАС были визуализированы два профиля экспрессии: профиль 1 (12 пациентов) и 2 (7 пациентов) (рис. 2). Был проведен статистический анализ экспрессии генов нейровоспаления у пациентов с профилем 1, профилем 2 и здоровых добровольцев, который выявил 292 дифференциально экспрессируемых гена. При попарном *post-hoc* сравнении групп выявлено, что наиболее выраженное отличие от остальных групп имеет профиль 2: обнаружено 208 генов, по которым профиль 2 статистически значимо различался с профилем 1, и 262 гена, различавших его с группой здоровых добровольцев. Напротив, профиль 1 различался с профилем здоровых добровольцев лишь по 49 генам. Основными функциональными группами генов, по которым профиль 2 отличался от остальных профилей экспрессии, были гены, связанные с врожденным и приобретенным иммунитетом, функционированием микроглии, апоптозом, аутофагией и факторами роста. При анализе клинических характеристик пациентов, имевших профили экспрессии 1 и 2, существенных различий выявлено не было. Темпы прогрессирования заболевания также не были связаны с профилем экспрессии.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В нашем исследовании были выявлены гены, связанные с нейровоспалением, экспрессия которых различается в мононуклеарных клетках периферической крови у больных с БАС и здоровых людей — это были гены, связанные с аутофагией, апоптозом, реакциями приобретенного иммунитета и сигнальными каскадами факторов роста. У больных с БАС было обнаружено 2 различных профиля экспрессии генов нейровоспаления. Один из них был схож с профилем экспрессии здоровых людей, в другом отличалась экспрессия генов, связанных с врожденным и приобретен-

ным иммунитетом, функцией микроглии, аутофагией и апоптозом, каскадами факторов роста.

В последние годы все больше исследований указывают на роль системного воспаления и иммунных реакций у пациентов с БАС [11–13]. Показано, что при БАС происходит активация микроглии и астроцитов, что имеет нейропротективное значение на ранних этапах заболевания и провоспалительное на поздних стадиях. В зонах гибели мотонейронов в ЦНС среди основных патологических изменений описывается активация микроглии и периваскулярная инфильтрация моноцитами и Т-клетками [14]. При прижизненной позитронной эмиссионной томографии головного мозга у пациентов с БАС выявляются признаки распространенной активации микроглии [15]. Активированные в результате других патологических реакций, связанных с БАС, астроциты и микроглия способствуют ускорению темпов гибели нейронов. Провоспалительные цитокины, секретируемые ими, содействуют процессам глутаматной эксайтотоксичности, связывая между собой нейровоспаление и гибель нейронов, ассоциированную с эксайтотоксичностью [16].

При БАС описаны мутации в множестве генов, экспрессируемых как в нейронах, так и в микроглии, приводящие к нарушению аутофагии, активации воспалительных путей в микроглии и астроглии и гибели двигательных нейронов [1, 17]. Но даже у пациентов со спорадическим БАС без известных генетических изменений отмечается увеличение численности провоспалительных макрофагов и дисфункциональных Т-регуляторных клеток [13, 18]. В ряде исследований отмечено снижение экспрессии основного маркера Т-регуляторных клеток фактора транскрипции FOXP3 у пациентов с БАС и их способности подавлять пролиферацию других Т-лимфоцитов, что приводило к активации провоспалительных реакций. Эти изменения были наиболее выраженными у пациентов с быстрыми темпами прогрессирования заболевания. Интересно отметить, что при культивировании Т-регуляторных клеток, полученных от пациентов с БАС, со временем их функциональные способности восстанавливались [18, 19].

При анализе транскриптома у близнецов, среди которых только один болен БАС, определялось различие экспрессии 750 генов, принадлежащих к 74 сигнальным путям. Среди них отмечалось повышение экспрессии генов принадлежащих к 25 путям, связанным с иммунными функциями и передачей сигнала в клетках [20]. Изменение экспрессии генов, связанных с нейровоспалением было обнаружено и в фибробластах, полученных от пациентов с БАС, по сравнению с фибробластами здоровых людей, — наиболее выраженными были отличия экспрессии генов, принадлежащих к сигнальным путям Toll- и NOD-подобных рецеп-

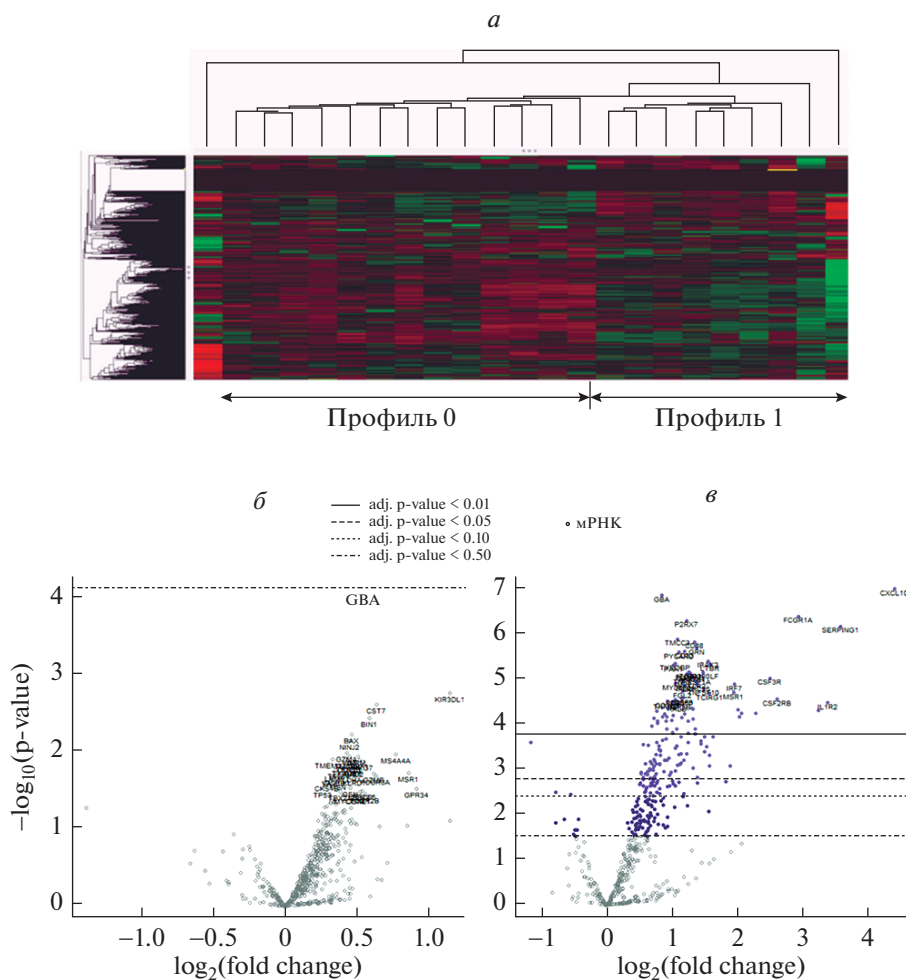


Рис. 2. Различные профили экспрессии генов нейровоспаления у пациентов с БАС. (а) Тепловая карта экспрессии генов нейровоспаления у пациентов с БАС. В столбцах представлены значения экспрессии генов отдельных пациентов. Строки представляют уровень экспрессии отдельных генов: черный – среднее значение экспрессии по общей выборке пациентов; красный – повышенный уровень экспрессии по сравнению со средним; зеленый – пониженный уровень экспрессии. Первый столбец представляет собой результаты пациента, который был исключен из исследования в связи тем, что образец не прошел контроль качества. (б) Вулканная диаграмма, представляющая сравнение изменение экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением, в группе с профилем 1 по сравнению со здоровыми добровольцами. По оси абсцисс – кратность изменения экспрессии, по оси ординат – отрицательный десятичный логарифм уровня значимости p . (в) Вулканная диаграмма, представляющая сравнение изменение экспрессии генов, ассоциированных с нейровоспалением, в группе с профилем 2 по сравнению со здоровыми добровольцами. По оси абсцисс – кратность изменения экспрессии, по оси ординат – отрицательный десятичный логарифм уровня значимости p . Синим выделены гены, достоверно различающиеся между группами.

торов [12]. При анализе экспрессии генов нейровоспаления циркулирующих моноцитов пациентов с БАС был выявлен специфический провоспалительный профиль, включающий *IL1B*, *IL8*, *FOSB*, *CXCL1* и *CXCL2*. Научной группой Zhao W. и соавт. в моноцитах пациентов с быстро прогрессирующим течением БАС было выявлено большее число генов с отличающейся от здоровых добровольцев экспрессией, чем в моноцитах больных с медленно прогрессирующим течением. Подобное провоспалительное состояние врожденной иммунной системы указывает на возможную роль моноцитов/макрофагов в патогенезе БАС [13]. В

нашем исследовании существенных различий между профилями экспрессии генов нейровоспаления у пациентов с быстро и медленно прогрессирующим течением БАС не обнаружено. Такое расхождение результатов может быть связано с использованием другого набора исследуемых генов и биологического материала, а также других критериев оценки темпов прогрессирования БАС. В то же время у пациентов с отличающимся профилем экспрессии генов нейровоспаления (профиль 2) в нашей работе более быстрого темпа прогрессирования заболевания отмечено не было. Клинические характеристики, связанные с провоспалитель-

тельным профилем экспрессии генов в РВМС у части пациентов с БАС в нашем исследовании, еще предстоит уточнить.

Каким образом провоспалительные миелиоидные клетки могут быть связаны с прогрессирующим БАС пока неясно. Возможно они мигрируют в ЦНС, поскольку при БАС и в моделях БАС показано нарушение целостности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [21]. Оказывая провоспалительное воздействие в ЦНС, они могут способствовать нейродегенерации. Даже если они не проникают в ЦНС они могли бы модулировать течение заболевания за счет увеличения выраженности периферического воспаления: проникая в селезенку, лимфатические узлы и контактируя с клетками периферической крови, они могут модулировать провоспалительный статус Т-клеток [22], дендритных клеток и натуральных киллеров, оказывая не прямое влияние на воспалительные процессы в ЦНС.

ВЫВОДЫ

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют об активации воспалительного процесса в периферических иммунных клетках, по сравнению со здоровыми людьми. Много данных указывают на то, что реакции воспаления являются одним из механизмов, способствующих прогрессированию нейродегенерации как при БАС, так и при других нейродегенеративных заболеваниях. Считается, что развитие БАС является многоступенчатым процессом, включающим большое количество патогенетических каскадов. Каждый шаг в этом процессе приносит свои патофизиологические изменения и таким образом является неотъемлемым элементом в развитии и прогрессировании заболевания. В нашем исследовании выявлена группа пациентов с особенно выраженным изменением экспрессии генов, связанных с нейровоспалением. Может ли рассматриваться экспрессия генов, ассоциированных с нейровоспалением, в качестве потенциального прогностического биомаркера, пока непонятно. Дальнейшее изучение воспалительных реакций при БАС может стать основой для разработки новых терапевтических подходов, которые позволят снизить темпы прогрессирования заболевания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00480 А.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям.

Информированное согласие. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brown R.H., Al-Chalabi A. // N Engl J Med. 2017. V. 377. P. 162–172.
2. Васильев А.В., Елисеева Д.Д., Иванова М.В., Кочергин И.А., Закройщикова И.В., Брылев Л.В., Штабницкий В.А., Захарова М.Н. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2018. Т. 12. С. 76–85.
3. Guo J., Yang X., Gao L., Zang D. // Brain Behav. 2017. V. 19. e00637.
4. van Es M.A., Hardiman O., Chio A., Al-Chalabi A., Pasterkamp R.J., Veldink J.H. // The Lancet. 2017. V. 390. P. 2084–2098.
5. Hardiman O., Al-Chalabi A., Chio A., Corr E.M., Logroscino G., Robberecht W. // Nature Reviews Disease Primers. 2017. V. 3. P. 17071.
6. Beers D.R., Appel S.H. // The Lancet Neurology. 2019. V. 18. P. 211–220.
7. Brooks B.R., Miller R.G., Swash M., Munsat T.L. // Amyotroph Lateral Scler. 2000. V. 1. P. 293–299.
8. Pal D.K., Evgrafov O.V., Tabares P., Zhang F., Durner M., Greenberg D.A. // Am J Hum Genet. 2003. V. 73. P. 261–270.
9. Wang F., Liu H., Blanton W.P., Belkina A., Lebrasseur N.K., Denis G.V. // Biochem J. 2010. V. 425. P. 71–83.
10. Greenwald R.J., Tumang J.R., Sinha A., Currier N., Cardiff R.D., Rothstein T.L. // Blood. 2004. V. 103. P. 1475–1484.
11. Lu C.H., Allen K., Oei F., Leoni E., Kuhle J., Tree T. // Neurol. — Neuroimmunol Neuroinflammation. 2016. V. 3. e244.
12. Won Y.H., Lee M.Y., Choi Y.C., Ha Y., Kim H., Kim D.Y. // PLoS One. 2016. V. 11. e0165290.
13. Zhao W., Beers D.R., Hooten K.G., Sieglaff D.H., Zhang A., Kalyana-Sundaram S. // JAMA Neurol. 2017. V. 74. P. 677–685.
14. Zhao W., Beers D.R., Appel S.H. // J. Neuroimmune Pharmacol. 2013. V. 8. P. 888–99.
15. Corcia P., Tauber C., Vercoullie J., Arlicot N., Prunier C., Praline J. // PLoS One. 2012. V. 7. P. 12.
16. Lee J., Hyeon S.J., Im H., Ryu H., Kim Y., Ryu H. // 2016. V. 8. P. 233–40.
17. Renton A.E., Chiò A., Traynor B.J. // Nature Neuroscience. 2014. V. 17. P. 17–23.
18. Beers D.R., Zhao W., Wang J., Zhang X., Wen S., Neal D. // JCI Insight. 2017. V. 2. P. 5.

19. Henkel J.S., Beers D.R., Wen S., Rivera A.L., Toennis K.M., Appel J.E. // *EMBO Mol Med*. 2013. V. 5. P. 64–79.
20. Tarr I.S., McCann E.P., Benyamin B., Peters T.J., Twine N.A., Zhang K.Y. // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P. 1.
21. Garbuzova-Davis S., Sanberg P.R. // *Front. Cell. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 21.
22. Stockinger B., Veldhoen M., Martin B. // *Semin. Immunol.* 2007. V. 17. P. 353–361

Variability of Neuroinflammatory Gene Expression Profiles in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis

M. V. Ivanova^a, A. S. Voronkova^a, V. S. Sukhorukov^a, and M. N. Zakharova^a

^aResearch Center of Neurology, Moscow, Russia

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease characterized by progressive death of motor neurons in the brain and spinal cord. The disease is incurable and inevitably leads to death, on average, within 3–5 years. The mechanisms of initiation, progression and spread of the pathological process are still unclear. It is believed that inflammatory response may contribute to disease progression, but its significance is not fully understood. We carried out a multiplex analysis of the expression of neuroinflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in patients with different rates of ALS progression ($n = 22$) in comparison with healthy volunteers. Fourteen genes were differentially expressed in ALS patients and healthy volunteers (*BAX*, *CLN3*, *PLEKHM1*, *AKT1*, *LAMP1*, *RAC2*, *VAV1*, *MPG*, *TFG*, *BRD2*, *CSK*, *MSN*, *GBA*, *VIM*), ($p < 0.05$; $q < 0.05$). These were mostly genes associated with autophagy, apoptosis, adaptive immunity, and growth factor cascades. There were no significant differences in gene expression between patients with fast and slow rates of ALS progression. A subgroup of ALS patients with a neuroinflammatory gene expression profile significantly different from other ALS patients (208 genes) and healthy volunteers (262 genes) ($p < 0.05$; $q < 0.05$) was identified. The results may indicate on the role of not only central, but also peripheral inflammatory reactions in the development of the pathological process in ALS.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, neuroinflammation, neurodegeneration, apoptosis, autophagy, adaptive immunity, progression rates, multiplex expression analysis

ЗНАЧИМОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ БЕЛКОВ И ДНК В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА В ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2021 г. Т. Н. Федорова¹, *, А. А. Логвиненко¹, Д. С. Бережной¹, В. В. Полещук¹, О. А. Музычук¹, А. А. Шабалина¹, С. Н. Иллариошкин¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научный центр неврологии”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 31.07.2020 г.

После доработки 16.12.2020 г.

Принята к публикации 23.01.2021 г.

Окислительный стресс (ОС) играет важную роль в каскаде событий, приводящих к дегенерации дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона (БП). Определенный вклад в этот процесс вносят окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот. Активные формы кислорода и азота подвергают нитрованию белки с образованием стабильного соединения 3-нитротирозина (3-НТ), характеризующего развитие нитрозильного стресса, а также нуклеиновые кислоты с образованием продукта окисления ДНК 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG). Продукты окисления белков и ДНК регистрируются в биологических жидкостях пациентов с БП, однако данные об их количественном содержании в зависимости от тяжести заболевания, являются противоречивыми. Целью данной работы явилось сопоставление уровня продуктов окислительного повреждения белков и ДНК в крови пациентов с тяжестью заболевания и оценка их диагностического значения. В периферической крови 134 пациентов с БП, находящихся на 1-4 стадиях заболевания по функциональной шкале Hoehn-Yahr, было измерено содержание 3-нитротирозина (3-НТ) и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG). Повышение уровня 3-НТ в плазме крови отмечается у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания повышение уровня 3-НТ относительно контроля составило в среднем 58%, а у пациентов, находящихся на 1-й стадии заболевания (с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения) — на 30%, что статистически значимо отличается от данных, полученных у пациентов на более поздних этапах заболевания. Следовательно, повышение продукта окислительного метаболизма белков 3-НТ в плазме крови пациентов с БП является весьма ранним и достаточно универсальным биомаркером БП, степень выраженности которого нарастает по мере прогрессирования нейродегенеративного процесса. Повышение уровня 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина относительно нормы регистрируется в сыворотке крови у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях заболевания это повышение было в среднем на 60%, а у наиболее тяжелых пациентов, находящихся на 4-й стадии заболевания, содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина было повышено относительно нормы уже на 183%, что в три раза превышало соответствующие значения в других подгруппах больных. Таким образом, в данном исследовании обнаружено системное увеличение содержания как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов. При этом особую значимость представляют данные о повышении продуктов окисления белков и ДНК у пациентов с впервые поставленным диагнозом, находящихся на первой стадии заболевания и не получавших ранее патогенетической терапии, что может быть важным фактором в ранней диагностике заболевания. Идентификация биомаркеров окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот на ранних стадиях БП является важным шагом в направлении улучшения существующих диагностических критериев, а также выявления лиц, подверженных риску заболевания. Значительное повышение содержания 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови пациентов, находящихся на 4-й стадии заболевания, свидетельствует о связи данного показателя с тяжестью заболевания и может представить дополнительную ценность с точки зрения объективной оценки прогрессирования заболевания. В целом, понимание патогенетических факторов, ответственных за гибель дофаминергических нейронов, включающих окислительные повреждения липидов, белков и нуклеиновых кислот может иметь большое значение для разработки комплексных нейропротекторных подходов к лечению БП и оценке эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, периферическая кровь, окислительные повреждения, белки, ДНК, 3-нитротирозин, 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин, стадия заболевания

DOI: 10.31857/S1027813321020059

Болезнь Паркинсона (БП) является распространенным нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся прогрессирующей дегенераци-

ей дофаминергических нейронов в области компактной части черной субстанции (ЧС) и наличием внутринейрональных включений, состоящих из не-

* Адресат для корреспонденции: 125367 Россия, Москва, Волоколамское ш., д. 80; тел. (495) 490-24-09; e-mail: tn51@bk.ru.

правильно свернутых и агрегированных форм пресинаптического белка α -синуклеина [1, 2].

Решающую роль в каскаде событий, приводящих к дегенерации дофаминергических нейронов, играет окислительный стресс (ОС), возникающий в условиях нарушения окислительно-восстановительного баланса, необходимого для нормального функционирования клетки. [3–7]. Гибель нейронов в области ЧС обусловлена не только развитием ОС, определенный вклад в этот процесс вносят окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот [2]. Уязвимость мозга к активным формам кислорода (АФК) и азота в этой области обусловлена наличием нейронов, чувствительных к окислительным повреждениям [8] за счет особенностей метаболизма, низкой активности антиоксидантных (АО) ферментов и более высокого уровня белков, ДНК и окисленных липидов [9].

АФК, преимущественно $O_2^{\cdot-}$, генерируемые в условиях ОС, реагируют с оксидом азота (NO) с образованием пероксинитрита ($OONO^{\cdot-}$), одного из наиболее разрушительных реактивных радикалов [10]. Предполагается, что изменения метаболизма дофамина при БП могут быть результатом пероксинитрит-опосредованной инактивации фермента тирозин-гидроксилазы, участвующего в синтезе дофамина [11].

Поскольку $ONOO^{\cdot-}$ является нестабильным промежуточным соединением, он атакует наиболее уязвимую аминокислоту тирозин (Тир), в основном в составе белков, образующих нейрональный цитоскелет, а также α -синуклеина [12, 13], что обуславливает нарушение их структуры и функции [14]. Прогрессирующее нитрование белков приводит к образованию стабильного соединения 3-нитротирозина (3-НТ), характеризующего развитие нитрозильного стресса [15, 16].

Было обнаружено, что уровень 3-НТ увеличивается в мозге пациентов с БП [17]. По данным Eve et al. [18] повышение 3-НТ коррелирует с гиперэкспрессией нейрональной pNOS в мозге (преимущественно в базальных ганглиях) пациентов с БП [19]. Посттрансляционная модификация α -синуклеина 3-НТ значительно изменяет его биохимические, биофизические и клеточные свойства, приводит к олигомеризации и влияет на клиренс агрегатов α -синуклеина [20], и этот процесс вовлечен в возникновение и прогрессирование нейродегенеративных заболеваний [21–24]. Протеомное исследование показало, что нитрование N-концевого остатка Тир-39, присутствующего в белке α -синуклеина, избирательно увеличивалось в 7 раз [20].

Активные формы кислорода (OH^{\cdot} радикал) и азота также могут подвергаться повреждению нуклеиновые кислоты с образованием продукта окисления ДНК 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG) [25–28]. В исследованиях post mortem

показано увеличение содержания 8-ОН-dG не только в структурах ЧС, но и в других областях мозга пациентов с БП [29–31].

Учитывая, что ключевой этиологический фактор БП до сих пор не установлен, а его развитие связывают с биохимическими нарушениями как в ЦНС, так и на периферии [3, 6], отдельный интерес представляют маркеры системных окислительных повреждений. Наличие 3-НТ и 8-ОН-dG регистрируются не только в ткани мозга, но и в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), крови и моче пациентов с БП [32, 33]. Однако данные литературы, характеризующие показатели окисляемости белков и ДНК, измеряемые в биологических жидкостях пациентов с БП, являются противоречивыми. В ряде исследований показано, что повышение содержания 3-НТ в сыворотке крови пациентов с БП отмечается только у больных, находящихся на ранних стадиях заболевания (1 и 2), в то время как у пациентов на более поздних стадиях (3 и 4) содержание 3-НТ было сопоставимо с контролем [34, 35]. В другом исследовании авторы регистрировали повышенный уровень 3-НТ в плазме крови без учета стадии заболевания в общей популяции пациентов [36].

Значительное повышение 8-ОН-dG выявлено в моче пациентов с БП относительно группы контроля [37, 39, 36]. Мета-анализ, проведенный Zexu Wei [7], также показал, что содержание в крови больных 8-ОН-dG и нитрита было повышено относительно контрольной группы; однако в ЦСЖ повышения уровня 8-ОН-dG выявлено не было, что по предположению авторов связано с небольшим размером выборки.

В работе Chiung-Mei Chen et al. [40] повышение уровня 8-ОН-dG, коррелирующее со стадией заболевания, регистрировали в лейкоцитах крови пациентов с БП. Однако в другом исследовании уровень 8-ОН-dG в крови был увеличен относительно контроля, стадия заболевания при этом не учитывалась [38]. В работе Kikuchi A. [41] окисляемость нуклеиновых кислот в сыворотке крови характеризовалась только повышением соотношения продуктов окисления ДНК/РНК (8-ОНdG/8-ОНG). Представленные данные литературы свидетельствуют о том, что оценка содержания продуктов окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот в крови пациентов как биомаркеров, коррелирующих с тяжестью заболевания, остается актуальным вопросом.

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы явилось сопоставление уровня продуктов окислительного повреждения белков и ДНК в крови пациентов с БП с тяжестью заболевания по неврологической шкале, и оценка их диагностического значения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего в исследовании приняли участие 134 пациента с БП. Оценка степени тяжести БП проводилась по функциональной шкале Hoehn M., Yahr M., в соответствии с которой выделяли 4 стадии заболевания: 1 – гемипаркинсонизм, 2 – умеренные симптомы двустороннего паркинсонизма, 3 – присоединение постуральной неустойчивости, 4 – выраженная постуральная неустойчивость. В соответствии с данной шкалой среди пациентов было выделено 25 человек с 1-й стадией заболевания, 38 – со 2-й, 51 – с 3-й и 20 – с 4-й стадией заболевания. Следует отдельно подчеркнуть, что в группу с 1-й стадией заболевания вошли пациенты с впервые установленным диагнозом, не получавшие ранее противопаркинсонической терапии. Все пациенты на более тяжелых стадиях получали стандартное противопаркинсоническое лечение – препараты с действующим веществом Леводопа + Бенсеразид. Среди пациентов мужчин было 61 и женщин – 73, возраст больных составил от 31 до 78 лет, средний возраст – 58.03 ± 0.88 лет. Все пациенты находились на стационарном или амбулаторном обследовании и лечении в отделении нейродегенеративных и наследственных заболеваний нервной системы и в научно-консультативном отделении ФГБНУ НЦН. Диагноз БП установлен на основании признаков для критериев Банка головного мозга Великобритании/QSBB. Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц, соответствующих основной группе по полу и возрасту.

Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина определяли в сыворотке крови 71 пациента иммуноферментным методом с использованием стандартного набора реагентов Human 8-Hydroxydeoxyguanosine ELISA Kit (CSB-E10140h) фирмы Cusabio. Определение 8-ОН-dG данным набором ИФА основано на методе конкурентного связывания тестируемого соединения.

Содержание 3-нитротирозина определяли в плазме крови 63 пациентов иммуноферментным методом с использованием стандартного набора реагентов Nitrotyrosine ELISA TEST KIT (HK501) фирмы Hycultbiotech, в основе которого лежит “сэндвич” метод твердофазного ИФА.

Кровь у пациентов брали утром натощак при помощи вакуумной системы для забора крови в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, рекомендованным производителем набора для определения 3-НТ, и в пробирки для последующего получения сыворотки для определения 8-ОН-dG. После центрифугирования при 3000 об./мин в течение 10 мин образцы плазмы переносили в пробирки Eppendorf и помещали в морозильную камеру при -80°C до проведения анализа.

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета программ Statistica 7.0. Проверка на нормальность

распределения осуществлялась при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Дальнейший анализ осуществляли с помощью непараметрических критериев: дисперсионный анализ – тест Краскела–Уоллиса, оценка достоверности межгрупповых различий – тест Данна. Все данные в статье представлены в виде среднего и ошибки среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень 3-нитротирозина в плазме крови у пациентов, находящихся на 2-й (44.6 ± 2.6 нМ), 3-й (43.1 ± 1.9 нМ) и 4-й (44.2 ± 3.6 нМ) стадиях заболевания, был статистически значимо повышен относительно нормы (27.8 ± 2.2 нМ), соответственно, на 60.4%, 55%, 61%, что в среднем по всем группам составило 58% (рис. 1). У пациентов на 1-й стадии заболевания, т.е. у больных с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения, уровень 3-нитротирозина (36.1 ± 1.1 нМ) был также статистически значимо повышен относительно нормы – на 30%, что, однако, оказалось существенно ($p < 0.05$) ниже, чем в остальных сопоставляемых группах пациентов с более развернутыми стадиями БП (рис. 1).

Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови у пациентов, находящихся на 1-й (73.7 ± 2.8 нг/мл), 2-й (66.8 ± 3.07 нг/мл) и 3-й (74.7 ± 2.3 нг/мл) стадиях заболевания, было статистически значимо повышено относительно нормы (44.7 ± 2.6 нг/мл), соответственно, на 64.9%, 49.4% и 66.9% (рис. 2). Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина у больных, находящихся на 4-й стадии заболевания, было также статистически значимо повышено (126.6 ± 12.9 нг/мл) относительно нормы – на 183%, но при этом уровень этого повышения был значимо больше (на 72%, 89% и 70%) относительно пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях, соответственно (рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время ОС рассматривается как основной патогенетический механизм гибели нейронов при БП. Вместе с тем, окислительные повреждения затрагивают не только липидные компоненты клеточных мембран, но и белки и нуклеиновые кислоты. По данным литературы, стабильным маркером окислительного повреждения белков является 3-нитротирозин [15, 16]. Устойчивое нарушение окислительного баланса нуклеиновых кислот характеризует продукт окисления ДНК – 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин [27, 28]. Окислительные повреждения липидов, белков и ДНК могут приводить к прогрессирующему повреждению нейронов при БП. Так генерация 3-нитротирозина в белках α -синуклеина является одним из патологических факторов, вызывающих

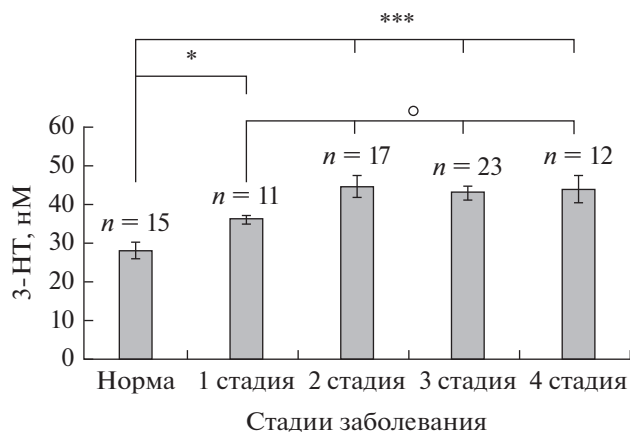


Рис. 1. Содержание 3-нитротирозина (3-НТ, нМ) в плазме крови пациентов с 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиями БП. *** $p < 0.001$, * $p < 0.05$: достоверность различий по сравнению с группой нормы, ○ $p < 0.05$: достоверность различий по сравнению с 1-й стадией.

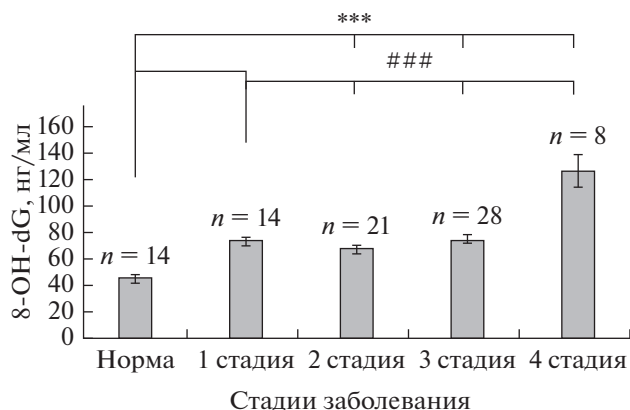


Рис. 2. Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG, нг/мл) в сыворотке крови пациентов с 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиями БП. *** $p < 0.001$: достоверность различий по сравнению с группой нормы; ### $p < 0.001$: достоверность различий по сравнению с 4-й стадией.

гибель дофаминергических нейронов по пути апоптоза при БП [24, 42, 43]. При этом нарушение окислительного гомеостаза, приводящее повреждению белков и ДНК, может затрагивать не только нервную ткань, но и носить системный характер [44]. Согласно “прионной гипотезе” БП, начальные стадии заболевания связаны с возникновением агрегатов α-синуклеина и повреждениями как раз на периферии – в кишечнике и периферической нервной системе [44]. В связи с этим, изменение маркеров ОС в крови может отображать патогенетические каскады, как первичные, так и вторичные по отношению к патологии в мозге.

Данные литературы, отражающие количественное содержание как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов с БП, являются противоречивыми. В связи с этим в нашей работе мы оценили изменение содержания продуктов окислительного повреждения белков и ДНК крови пациентов с БП в зависимости от тяжести заболевания.

В полученных нами результатах повышение уровня 3-НТ в плазме крови относительно нормы отмечается у всех обследованных пациентов, находящихся на 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания. Следует добавить, что у пациентов на 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания повышение 3-НТ было выше в среднем на 58%, в то время как у пациентов, находящихся на 1-й стадии заболевания (с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения) – лишь на 30%, что статистически значимо отличается от данных, полученных у пациентов на более далеко зашедших этапах заболевания. Следовательно, повышение уровня 3-НТ в плазме крови пациентов является весьма ранним и достаточно универсальным биомаркером БП,

степень выраженности которого нарастает по мере прогрессирования нейродегенеративного процесса. Наши данные частично согласуются с работой Bolner R. et al. [36], в которой повышенный уровень 3-НТ в плазме крови зарегистрирован в общей выборке пациентов с БП без учета стадии заболевания. В других исследованиях [12, 35] повышение содержания 3-НТ в сыворотке крови пациентов с БП авторы связывают только с ранними стадиями заболевания (1 и 2), в то время как у пациентов, находящихся на более поздних стадиях (3 и 4), содержание 3-НТ было сопоставимо с контролем. По нашим же данным, процесс окислительного повреждения белков сопутствует всем стадиям заболевания и усиливается параллельно с развитием патологии в мозге.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что повышенный относительно нормы уровень 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина регистрируется в сыворотке крови у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях заболевания это повышение составляло в среднем 60%, а у пациентов на 4-й стадии заболевания содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина было повышено относительно нормы уже на 183%, что в три раза превышало соответствующие значения в других подгруппах больных. Следовательно, процесс окислительного повреждения ДНК был значительно более выражен у пациентов с наиболее тяжелой стадией заболевания. Наши данные согласуются с работой Zexu Wei [7], в которой показано повышение содержания 8-ОН-dG в крови при БП, однако это исследование было проведено в общей популяции больных без учета стадии заболевания. В работе Chen et al. [40] повышение уровня 8-ОН-dG в лейкоцитах крови пациентов с БП коррелиро-

вало со стадией заболевания, что совпадает с нашими данными по сыворотке крови. Сопоставление этих данных позволяет предполагать наличие системных окислительных повреждений ДНК при развитии БП.

Таким образом, результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот в крови пациентов с БП проявляются на всех стадиях заболевания, начиная с 1-й. Эти результаты существенно дополняют данные о постепенном снижении активности антиоксидантной системы при БП, полученные нами ранее [45], и свидетельствуют в пользу самостоятельной роли системных повреждений в патогенезе данного заболевания. В этом исследовании мы обнаружили системное увеличение содержания как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов. Отдельный интерес представляют данные о наличии продуктов окисления белков и ДНК в крови пациентов с впервые поставленным диагнозом на 1-й стадии заболевания, не получавших ранее патогенетической терапии, поскольку они показывают значение этих параметров в ранней диагностике заболевания. Идентификация биомаркеров окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот на ранних стадиях БП является важным шагом в направлении улучшения существующих диагностических критериев, а также выявления лиц, подверженных риску заболевания. Значительное повышение содержания 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови пациентов, находящихся на 4-й стадии, свидетельствует о связи данного показателя с тяжестью заболевания и может представить дополнительную ценность с точки зрения прогноза его развития.

В целом, понимание патогенетических факторов, ответственных как за развитие нейродегенерации, так и системных повреждений при БП, включая окислительные повреждения липидов, белков и нуклеиновых кислот, имеет большое значение для разработки комплексных протекторных подходов к лечению БП и оценки эффективности проводимого лечения.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в рамках гос. задания Научного центра неврологии, номер темы АААА-А19-119111290050-6.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Этическое одобрение. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального комитета по

исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям.

Информированное согласие. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Spillantini M.G., Crowther R.A., Jakes R., Hasegawa M., Goedert M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95(11). P. 6469–6473.
2. *Olanow C.W.* // Mov. Disord. 2015. V. 30(1). P. 37–44.
3. *Lin M.T., Beal M.F.* // Nature. 2006. V. 443. P. 787.
4. *Blesa J., Trigo-Damas I., Quiroga-Varela A., Jackson-Lewis V.R.* // Front. Neuroanat. 2015. V. 9. P. 91.
5. *Kim G.H., Kim J.E., Rhie S.J., Yoon S.* // Exp. Neurobiol. 2015. V. 24. P. 325–340.
6. *Palocz J., Varga Z.V., Hasko G., Pacher P.* // Antioxid. Redox Signal. 2018. V. 29. P. 75–108.
7. *Wei Z., Li X., Li X., Liu Q., Cheng Y.* // Front. Mol. Neurosci. 2018. V. 11. P. 236.
8. *Niedzielska E., Smaga I., Gawlik M., Moniczewski A., Stankowicz P., Pera J., Filip M.* // Mol. Neurobiol. 2016. V. 53. P. 4094–4125.
9. *Jami M.-S., Salehi-Najafabadi Z., Ahmadinejad F., Hoedt E., Chaleshtori M.H., Ghatrehsamani M., Neubert T.A., Larsen J.P., Møller S.G.* // Neurochem. International. 2015. V. 90. P. 134–141.
10. *Fernández E., García-Moreno J.-M., Martín de Pablos A., Chacón J.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. P. 912–918.
11. *Ara J., Przedborski S., Naini A. B., Jackson-Lewis V., Trifiletti R.R., Horwitz J., Ischiropoulos H.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 7659–7663.
12. *Fernandez E., Garcia-Moreno J.M., Martin De Pablos A., Chacon J.* // Antioxid. Redox Signal. 2014. V. 21(15). P. 2143–2148.
13. *Sengupta S., Bhattacharjee A.* // J. Proteomics Genomics. 2016. V. 1. P. 105.
14. *Zhan X., Wang X., Desiderio D.M.* // Mass Spectrometry Reviews. 2015. V. 34. P. 423–448.
15. *Seeley K.W., Fertig A.R., Dufresne C.P., Pinho J.P.* // Int. J. Mol. Sci. 2014. V. 15. P. 6265–6285.
16. *Cruz D.F., Fardilha M.* // Porto Biomed. J. 2016. V. 1. P. 129–135.
17. *Danielson S.R., Andersen J.K.* // Free Radic. Biol. Med. 2008. V. 44(10). P. 1787–1794.
18. *Eve D.J., Nisbet A.P., Kingsbury A.E., Hewson E.L., Daniel S.E., Lees A.J., Marsden C.D., Foster O.J.* // Brain Res. Mol. Brain Res. 1998. V. 63. P. 62–71.
19. *Gatto E.M., Riobó N.A., Carreras M.C., Cheriñavsky A., Rubio A., Satz M.L., Poderoso J.J.* // Nitric Oxide: Biology and Chemistry. 2000. V. 4(5). P. 534–539.
20. *Gonos E.S., Kapetanou M., Sereikaite J., Bartosz G., Naparko K., Grzesik M., Sadowska-Bartosz I.* // Aging (Albany NY). 2018. V. 10(5). P. 868–901.
21. *McCormack A.L., Mak S.K., Di Monte D.A.* // Cell. Death Dis. 2012. V. 3. P. 315.
22. *Duda J.E., Giasson B.I., Chen Q., Gur T.L., Hurtig H.I., Stern M.B., Gollomp S.M., Ischiropoulos H., Lee V.M.,*

- Trojanowski J.Q.* // American J. Pathology. 2000. V. 157(5). P. 1439–1445.
23. *Reynolds M.R., Berry R.W., Binder L.I.* // Biochemistry. 2007. V. 46(25). P. 7325–7336.
24. *Burai R., Ait-Bouziad N., Chiki A., Lashuel H.A.* // J. Am. Chem. Soc. 2015. V. 137(15). P. 5041–5052.
25. *Yermilov V., Rubio J., Ohshima H.* // FEBS Lett. 1995. V. 376. P. 207–210.
26. *Dizdaroglu M., Jaruga P., Birincioğlu M., Rodriguez H.* // Free Radic. Biol. Med. 2002. V. 32. P. 1102–1115.
27. *Collins A.R., Cadet J., Möller L., Poulsen E.H., Viña J.* // Arch. Biochem. Biophys. 2004. V. 423. P. 57–65.
28. *Surendran S., Rajasankar S.* // Neurol. Sci. 2010. V. 31. P. 531–540.
29. *Sanchez-Ramos J.R., Overvik E., Ames B.N.* // Neurodegeneration. 1994. V. 3. P. 197–204.
30. *Alam Z.I., Jenner A., Daniel S.E., Lees A.J., Cairns N., Marsden C.D., Jenner P., Halliwell B.* // J. Neurochem. 1997. V. 69. P. 1196–1203.
31. *Nakabeppu Y., Tsuchimoto D., Yamaguchi H., Sakumi K.* // J. Neurosci. Res. 2007. V. 85. P. 919–934.
32. *Zhang J., Perry G., Smith M.A., Robertson D., Olson S.J., Graham D.G., Montine T.J.* // Am. J. Pathol. 1999. V. 154(5). P. 1423–1429.
33. *Abe T., Isobe C., Murata T., Sato C., Tohgi H.* // Neurosci. Lett. 2003. V. 336(2). P. 105–108.
34. *Fernandez E., Garcia-Moreno J.M., Martin de Pablos A., Chacon J.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. P. 912–918.
35. *Garcia-Moreno J.M., Martin de Pablos A., Garcia-Sanchez M.I., Mendez-Lucena C., Damas-Hermoso F., Rus M., Chacon J., Fernandez E.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 18. P. 1296–1302.
36. *Bolner A., Micciolo R., Bosello O., Nordera G.P.* // Clin. Lab. 2016. V. 62. P. 105–112.
37. *Sato S., Mizuno Y., Hattori N.* // Neurol. 2005. V. 64. P. 1081–1083.
38. *Bogdanov M., Matson W.R., Wang L., Matson T., Saunders-Pullman R., Bressman S.S., Flint Beal M.* // Brain. 2008. V. 131(2). P. 389–96.
39. *Seet R.C.S., Lee C.Y. J., Lim E.C.H., Tan J.J.H., Quek A.M.L., Chong W.L., Looi W.F., Huang S.H., Wang H., Chan Y.H., Halliwell B.* // Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 48(4). P. 560–566.
40. *Chen C.-M., Liu J.-L., Wu Y.-R., Chen Y.-C., Cheng H.-S., Cheng M.-L., Chiu D.T.-Y.* // Neurobiol. Dis. 2009. V. 33(3). P. 429–35.
41. *Kikuchi A., Takeda A., Onodera H., Kimpara T., Hisanaga K., Sato N., Nunomura A., Castellani R.J., Perry G., Smith M.A., Itoyama Y.* // Neurobiol. Dis. 2002. V. 9. P. 244–248.
42. *Jenner P.* // Ann. Neurol. 2003. V. 53(3). P. 26–36.
43. *Blanchard-Fillion B., Prou D., Polydoro M., Spielberg D., Tsika E., Wang Z., Hazen S.L., Koval M., Przedborski S., Ischiropoulos H.* // J. Neurosci. 2006. V. 26. P. 6124–6130.
44. *Borghammer P., Van Den Berge N.* // J. Parkinsons Dis. 2019. V. 9. P. 281–295.
45. *Fedorova T.N., Logvinenko A.A., Poleshchuk V.V., Illarioshkin S.N.* // Neurochem. J. 2017. V. 11. P. 340–345.

Significance of Oxidative Damage to Proteins and DNA in Blood Patients with Parkinson's Disease in Assessing the Severity of the Disease

T. N. Fedorova^a, A. A. Logvinenko^a, V. V. Poleshchuk^a,
O. A. Muzychuk^a, A. A. Shabalina^a, and S. N. Illarioshkin^a

^aResearch Center of Neurology, Moscow, Russia

Oxidative stress (OS) plays an important role in the cascade of events leading to the dopaminergic neuron degeneration in Parkinson's disease (PD). Oxidative damage to proteins and nucleic acids contributes to this process. Reactive oxygen and nitrogen species cause protein nitration, and form a stable compound 3-nitrotyrosine (3-NT), which characterizes the development of nitrazyl stress, as well as nucleic acids which form the product of DNA oxidation, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-dG). Protein and DNA oxidation products are found in biological fluids of PD patients, however, data on their quantitative content depending on the severity of the disease is contradictory. The aim of this work was to evaluate the role of oxidative damage to proteins and DNA in blood of patients with PD in the disease progression. The content of 3-nitrotyrosine (3-HT) and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH -dG) was measured in the peripheral blood of 134 PD patients on different disease stages (1-4) according to the Hoehn-Yahr functional scale. An increase in the level of 3-NT in blood plasma was observed in all examined patients. At the same time, in patients on the 2nd, 3rd and 4th stages of the disease, the increase in 3-NT relative to the control averaged 58%; and 30% in patients on the 1st stage, which is statistically significantly different from the data obtained at more advanced stages of the disease. Therefore, an increase in the product of oxidative metabolism of 3-NT proteins in the blood plasma of PD patients is an early PD biomarker, the expression of which increases with the progression of the neurodegenerative process. An increase in the level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine relative to norm was shown in the blood serum of all patients examined. In patients at the 1st, 2nd and 3rd stages of the disease, this increase averaged 60%, and in the most severe cases on the 4th stage of the disease - 183% relative to the control values, which is three times higher than the corresponding values in other compared subgroups. Thus, the level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine is a biomarker of the most severe disease stages. In this study, we found a systemic increase in the content of both 3-nitrotyrosine and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in the pa-

tients' blood. At the same time, data on the increase in the protein and DNA oxidation products in the blood of first diagnosed patients are of particular importance. The identification of biomarkers of oxidative damage to proteins and nucleic acids in the early stages of PD is an important step towards improving existing diagnostic criteria, as well as identifying individuals at risk. A significant increase in the content of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in blood serum of patients on the 4th stage of the disease indicates the connection of this indicator to the disease severity. In general, understanding the pathogenetic factors responsible for the death of dopaminergic neurons, including oxidative damage to lipids, proteins, and nucleic acids, may be of great importance for the development of complex neuroprotective approaches to the treatment of PD and the assessment of the treatment effectiveness.

Keywords: Parkinson disease, peripheral blood, 3-Nitrotyrosine, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine, stage of disease