

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 52, номер 3, 2021

---

---

Леонид Валентинович Розенштраух 10 апреля 1937–18 сентября 2020 г.	3
Редактирование генома и регуляция экспрессии генов с помощью технологий CRISPR/Cas в нейробиологии <i>Л. Н. Гринкевич</i>	4
Пуринергическая регуляция нейровоспаления при черепно-мозговой травме <i>Н. Б. Серебряная, Е. Е. Фомичева, П. П. Якуцени</i>	24
Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород <i>В. В. Зинчук</i>	41
Один феномен с множеством интерпретаций: асимметрия лобного альфа-ритма ЭЭГ у здоровых людей. Часть I. <i>М. Е. Мельников</i>	56
Nampt, Nad, когнитивные функции и продолжительность жизни <i>Б. И. Кузник, С. О. Давыдов, Н. И. Чалисова, Н. С. Линькова, О. М. Ивко</i>	81
Биологические маркеры злокачественных новообразований <i>А. Ф. Повещенко, В. И. Коненков, А. Ю. Летягин, Г. А. Шкурат</i>	93

---

---

# Contents

---

---

**Vol. 52, No. 3, 2021**

---

---

Leonid Valentinovich Rozenshtraukh April 10, 1937–September 18, 2020	3
Genome Editing and Regulation of Gene Expression Using CRISPR/Cas Technologies in Neurobiology <i>L. N. Grinkevich</i>	4
Purinergic Regulation of Neuroinflammation in Traumatic Brain Injury <i>N. B. Serebryanaya, E. E. Fomicheva, P. P. Yakutseni</i>	24
Oxygen Transport Functions of Blood and Hydrogen Sulfide Gazotransmitter <i>V. V. Zinchuk</i>	41
A Single Phenomenon with a Multitude of Interpretations: EEG Frontal Alpha Asymmetry in Healthy People. Part I <i>M. E. Melnikov</i>	56
NAMPT, NAD, Cognitive Function and Longevity <i>B. I. Kuznik, S. O. Davidov, N. I. Chalisova, N. S. Linkova, O. M. Ivko</i>	81
Biomarkers of Malignant Neoplasms <i>A. F. Poveshchenko, V. I. Konenkov, A. Yu. Letyagin, G. A. Shkurat</i>	93

---

---

## ЛЕОНИД ВАЛЕНТИНОВИЧ РОЗЕНШТРАУХ 10 АПРЕЛЯ 1937–18 СЕНТЯБРЯ 2020 г.

DOI: 10.31857/S0301179821030061



Ушел из жизни Леонид Валентинович Розенштраух – академик, один из крупнейших физиологов нашей страны и, несомненно, один из столпов, на которые в течение многих десятилетий опирался Всесоюзный, впоследствии Российский (а попросту Чазовский) кардиологический центр.

Главный редактор нашего журнала. Человек, благодаря характеру, энергии, активности которого “Успехи физиологических наук” смогли пережить самые тяжелые годы – годы перехода от одной системы к другой, годы нестабильности и неопределенности. В большой мере благодаря воле и характеру Леонида Валентиновича журнал в это непростое время устоял и даже вырос в глазах авторов и читателей.

Он очень много сделал. Многие сегодняшние антиаритмики – плод его труда, ума и преданности науке. Многие сегодняшние специалисты, занимающиеся исследованиями проводящей системы сердца по обе стороны океана, – его ученики.

Он не был мягким человеком – у него был твердый и жесткий характер. Но проявлялся этот характер только в вопросах, непосредственно касающихся науки: здесь он был непреклонен. Со всем по-другому он относился к своим ученикам. Для них он делал все. Им он обеспечивал возможность успешно и максимально эффективно работать. Он растил из них смену и вполне преуспел в этом.

Леонид Валентинович создал одну из лучших и самых продуктивных лабораторий в кардиоцентре. Вместе со своими “ребятами” он смог впервые провести исследования ионной проводимости в изолированных кардиомиоцитах с помощью метода внутриклеточного диализа и зарегистрировать активность одиночных ионных каналов, что дало возможность наблюдать за поведением белковых структур, ответственных за перенос ионов через клеточные мембраны кардиомиоцитов. Команда Розенштрауха создала уникальную установку, делающую возможной регистрацию микросокращения сердечной мышцы и определение ее тонуса. Все эти фундаментальные исследования и впервые созданные методики позволили в деталях изучить сложную структуру сокращения сердца и проведения возбуждения в сердечной мышце.

Можно долго перечислять научные достижения Леонида Валентиновича. Их много, и они значительны. Но сегодня мы хотим сказать не об этом. Мы хотим сказать о самом главном. Да, наука потеряла большого и сильного ученого, а мы потеряли очень хорошего человека. Нам будет очень его не хватать. Вечная память.

*Редакционная коллегия журнала*

УДК [57.052+57.053+577.25]:612.829

## РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИЙ CRISPR/CAS В НЕЙРОБИОЛОГИИ

© 2021 г. Л. Н. Гринкевич\*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

\*e-mail: Larisa\_Gr\_SPB@mail.ru

Поступила в редакцию 02.02.2021 г.

После доработки 10.03.2021 г.

Принята к публикации 12.03.2021 г.

CRISPR/Cas – это революционные технологии для направленного редактирования генома и эпигенома, позволяющие включать/выключать, а также модифицировать практически любой ген. Эти технологии обладают значительным потенциалом как для фундаментальных исследований, в том числе в области когнитивных наук, так и для терапии когнитивных расстройств. С помощью технологии CRISPR/Cas можно модифицировать гены человека, животных, растений и микроорганизмов и регулировать их экспрессию, что достаточно просто технически и не очень затратно. Данный обзор посвящен использованию CRISPR/Cas для исследования молекулярных механизмов функционирования центральной нервной системы (ЦНС) в норме и при патологиях. Основные трудности применения CRISPR/Cas для редактирования генома в ЦНС связаны со сложностью ее строения, неделимостью нейронов и наличием гематоэнцефалического барьера. Для изучения функций генов в ЦНС часто необходимо редактировать одновременно несколько генов, причем в разных структурах и клетках мозга. В обзоре обсуждены достижения последних лет, связанные с адаптацией технологий CRISPR/Cas для генетических модификаций и регуляции экспрессии генов в нейронах *in vitro* и *in vivo*. Последний раздел обзора будет посвящен возможностям применения этих технологий для коррекции когнитивных дисфункций на модельных животных и потенциальным терапевтическим подходам для лечения заболеваний, связанных с когнитивными нарушениями у людей.

**Ключевые слова:** CRISPR/Cas, редактирование генома, эпигенетика, долговременная память, когнитивные нарушения

DOI: 10.31857/S0301179821030024

Технологии направленного редактирования генома CRISPR/Cas позволяют модифицировать гены-мишени, удалять или вставлять новые. Позже эти технологии были адаптированы для регуляции экспрессии генов на уровне транскрипции и редактирования эпигенома, что открывает перспективы для включения или выключения экспрессии гена в строго определенные временные рамки и, что важно, эти изменения обратимы. С помощью технологии CRISPR/Cas можно модифицировать гены человека, животных, растений и микроорганизмов или регулировать их экспрессию, что достаточно просто технически и не очень затратно. За последние несколько лет достигнуты огромные успехи в редактировании генома с помощью CRISPR/Cas. Была значительно повышена эффективность, клеточная специфичность и целевая направленность CRISPR/Cas-опосредованного нокаута и генной коррекции [52, 60]. Произошел значительный прогресс от

направленной модификации генов к трехмерной инженерии генома, что позволит лучше понять механизмы регуляции экспрессии генов при адаптивных перестройках [110]. Ученые надеются, что с использованием технологий CRISPR/Cas можно будет лечить тяжелые заболевания, в том числе моногенные генетические [107]. Кроме того, системы CRISPR/Cas обладают большим потенциалом для адресной доставки лекарств и их высвобождения, что важно для развития персонализированной медицины. Данный обзор посвящен перспективам использования CRISPR/Cas для исследования молекулярных механизмов функционирования ЦНС и потенциальным терапевтическим подходам для лечения заболеваний, связанных с когнитивными нарушениями. Основные трудности применения CRISPR/Cas для редактирования генома в ЦНС связаны со сложностью ее строения и неделимостью нейронов; кроме того, нервная система ограждена гематоэн-

цефалическим барьером и поверхностно недоступна. Для изучения функций генов в нервной системе часто необходимо редактировать одновременно несколько генов, причем в разных структурах и клетках мозга, что требует введения конструкций, обладающих высокой клеточной специфичностью. Данная область в настоящее время находится в стадии интенсивных разработок [88]. В настоящее время технологии CRISPR/Cas непрерывно совершенствуются [из различных видов бактерий выделяются CRISPR/Cas, обладающие различными новыми свойствами, которые, к тому же, путем генно-инженерных манипуляций наделяются нужными характеристиками], что позволяет в ближайшее время ожидать большой прогресс в этой области.

### ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ CRISPR/CAS

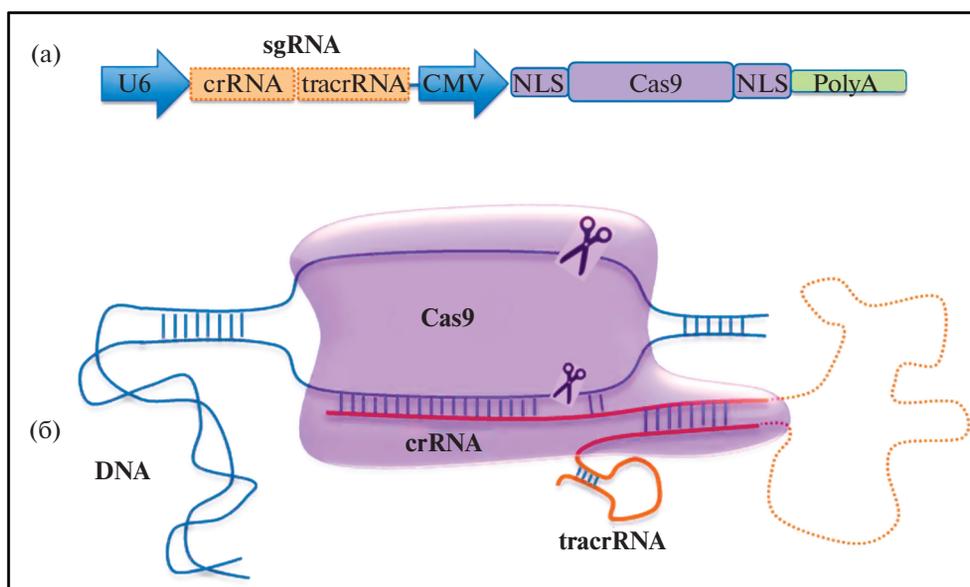
В CRISPR/Cas-технологиях используется система CRISPR, открытая Франсиско Мохика, которая лежит в основе адаптивного иммунитета у бактерий. Исследуя древние бактерии Археи, он обнаружил наличие у них повторяющихся, идентичных палиндромных последовательностей ДНК, разделенных уникальными последовательностями – спейсерами. Эти кластерные структуры были названы **CRISPR** (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*). Дальнейшие исследования Мохика показали, что последовательности нуклеотидов многих спейсеров совпадают с последовательностями геномов вирусов, паразитирующих на данных бактериях, и предположил, а впоследствии и доказал, что CRISPR система – это основа адаптивного иммунитета бактерий. В 2005 году он с трудом опубликовал на эту тему первую публикацию, которая сначала была отклонена несколькими крупными научными журналами, как не представляющая интереса и была опубликована только спустя 2 года [72]. К 2002 году были обнаружены белки **Cas** (*CRISPR-associated sequence*), кодируемые генами, обычно расположенными рядом с CRISPR-касетами [41]. Белки **CAS** являются нуклеазами, они способны разрезать ДНК и соответственно уничтожать бактериальных паразитов. Прокариотические CRISPR кодируют две РНК, одна из них **tracrRNA** (*транскрибируемая CRISPR-RNA*), обеспечивающая активацию белка Cas, а другая **crRNA** (*CRISPR-RNA*), кодируемая спейсером, узнает ген-мишень, и комплементарно с ним связывается. При попадании вируса в клетку, белки Cas в комплексе с **crRNA** узнают вирус, и, если в спейсерах есть информация о данном вирусе (последовательность РНК, комплементарная последовательности спейсера), то белки Cas активируются связанными с ними **tracrRNA**, разрезают вирусную ДНК и уничтожают ее. Впоследствии было показано, что CRISPR- кассета с последовательностями, кодирующими белки CAS

(CRISPR/CAS), составляет систему противовирусной защиты большинства прокариот [73].

В 2012 году Дженнифер Дудна и Эммануэль Шарпантье из Университета Беркли показали, что бактериальный комплекс CRISPR/Cas9 пригоден для расщепления практически любой двухцепочечной ДНК (дцДНК) и тем самым может быть эффективным инструментом для редактирования геномов любых организмов [43]. Для удобства работы они объединили **tracrRNA** с **crRNA** в единый транскрипт, названный **sgRNA**, добавили последовательность, кодирующую Cas9, и получили конструкцию для направленного расщепления любой ДНК-мишени, комплементарной небольшому участку **sgRNA**. Система CRISPR/Cas9 оказалась значительно более точной для сайт-специфического расщепления ДНК по сравнению с технологиями, использовавшимися ранее, а также значительно менее трудоемкой и менее дорогостоящей. Впоследствии группа Джорджа Черча и Фенг Жанга из Института Броуда экспериментально показали, что CRISPR/Cas9 способны работать в клетках многих эукариотов, в том числе человека [19].

Комплексы CRISPR/Cas, состоящие из белка Cas и **sgRNA**, могут быть экспрессированы в клетках при помощи ДНК плазмид, ДНК-вирусов, а также с помощью молекул РНК. Кроме того, возможна прямая доставка очищенного белка Cas в комплексе с искусственно синтезированной **gRNA** в виде рибонуклеиновых комплексов (**RNP**) или наночастиц/наноклубков [97]. В первом случае по замыслу экспериментатора собирается конструкция, состоящая из последовательностей ДНК, кодирующих белок **CAS** и **sgRNA** (**tracrRNA + crRNA**), а также промоторов, обеспечивающих запуск транскрипции. В **crRNA** закодирован РНК-гид, комплементарный участку гена, который планируется модифицировать. Схема конструкции представлена на рис. 1а.

Далее конструкция CRISPR/Cas встраивается в плазмиду/упаковывается в вирусные частицы, и осуществляется трансфекция/инфекция клеток-мишеней. В клетках происходит синтез белка Cas9 и **sgРНК**. Комплекс **sgРНК–Cas9** распознает искомый участок ДНК клетки, и Cas9 создает двухцепочечный разрез (**DSB**) в ДНК, если в ней содержится локус **PAM** (последовательность нуклеотидов 5'-NGG (где N – любой нуклеотид)). (рис. 1б). После чего клетка запускает механизм репарации (зашивания) ДНК с негомологичным соединением концов (**NHEJ**), при котором часто возникают инсерционные и делеционные мутации (инделлы). Если в данном месте происходит вставка или удаление нуклеотидов, не кратных трем, то возникает сдвиг рамки считывания, что часто ведет к нокауту (выключению) гена, или, если делеция кратна трем, происходит удаление



**Рис. 1.** Система редактирования генома CRISPR/Cas. (а) Схема генетической конструкции, кодирующей элементы системы CRISPR/Cas. Cas9 – последовательность, кодирующая белок Cas9. sgRNA – единая химерная РНК, содержащая части crRNA и tracrRNA. В crRNA закодирован RNA гид. U6, CMV – промоторы необходимые для транскрипции. NLS – сигнал ядерной локализации, необходимый для транслокации конструкций в ядро. ПолиА – сигнал полиаденилирования. (б) В клетках происходит синтез белка Cas9 (выделен сиреневым цветом) и sgРНК (crRNA + tracrRNA). Комплекс Cas9-sgРНК распознает искомый участок ДНК клетки и Cas9 создает двухцепочечный разрез.

одной или нескольких аминокислот [19, 43, 67]. С более низкой вероятностью может происходить гомологически направленная репарация (HDR) и, если в систему внесена донорская ДНК-матрица, то она может быть вставлена (скопирована) в область разрыва, что позволяет осуществить специфическую модификацию гена [19, 67]. К настоящему времени найдены белки CAS, которые, в отличие от Cas9, работают с иными локусами PAM, что расширяет возможности редактирования.

Наиболее просто CRISPR/Cas9-зависимая модификация генов может быть произведена в легко доступных делящихся клетках и клетках в системе *in vitro*, поэтому практически сразу начались работы на эмбрионах, стволовых и раковых клетках. В 2013 году появились первые сообщения о редактировании с помощью CRISPR/Cas9 генома стволовых клеток человека, больного муковисцидозом [91]. В 2015 году были отредактированы геномы человеческих эмбрионов для исправления мутации в гене, который вызывает бета-талассемию, болезнь, затрудняющую продуцирование здоровых красных кровяных телец [55]. Технологии CRISPR/Cas9 были успешно применены для исправления патогенной мутации в стволовых клетках, полученных от пациента с дегенерацией фоторецепторов, что открывает возможности для лечения тяжелого пигментного ретинита [6]. К настоящему времени работ с применением CRISPR/Cas9 насчитывается сотни, и их количество растет в геометрической прогрес-

сии. В 2020 году, в результате большой важности внедрения технологии редактирования генов CRISPR/Cas9 для получения фундаментальных знаний и биомедицинских и биотехнологических приложений, Дженнифер Дудне и Эммануэль Шарпантье была присуждена Нобелевская премия по химии. Ниже будут обсуждены технологии CRISPR/Cas для редактирования работы генома в ЦНС и потенциальные терапевтические подходы для лечения заболеваний, связанных с когнитивными нарушениями.

## СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ И НОКАУТНЫХ ЖИВОТНЫХ

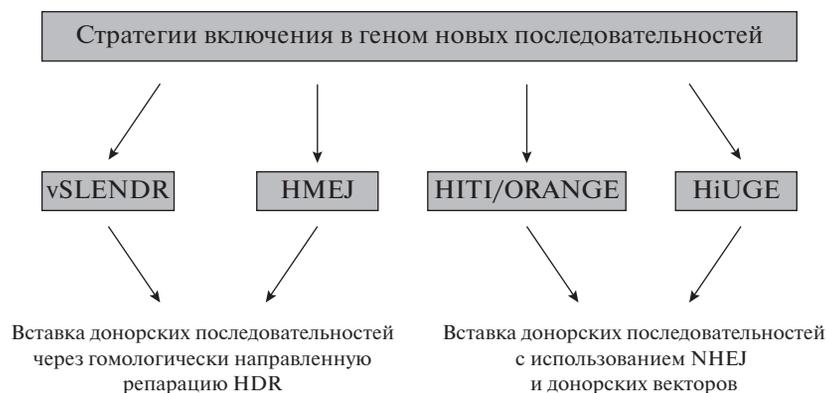
Одним из способов изучения функций нейрональных белков *in vivo* является нокаут/нокдаун (удаление/уменьшение экспрессии) кодирующих их генов. Ранее для этих целей использовались генетически модифицированные животные, для создания которых применялась сложная, трудоемкая и дорогостоящая генетическая инженерия. Кроме того, практически невозможным было создание животных с мультигенными изменениями. Технологии CRISPR/Cas оказались практически идеальными как для создания трансгенных животных через редактирование зародышевых линий [5, 65, 85], так и нокаута/нокдауна генов непосредственно в нейрональных клетках взрослых животных [99].

Создание трансгенных организмов с помощью CRISPR редактирования яйцеклеток позволяет достаточно быстро создавать не только трансгенных мышей, но и других животных, в том числе трансгенных крыс, которые, из-за способности к более стабильной длительной работе и меньшему влиянию отвлекающих некогнитивных факторов, широко применяются в качестве моделей в исследованиях поведенческой нейробиологии [28], а также приматов [106]. В 2017 году система CRISPR/Cas9 была применена для создания линий крыс **Cre knockin**, которые несут гены Cre в целевых генных локусах: доставка gRNAs/Cas9 и донорской ДНК осуществлялась инъекцией в оплодотворенные яйцеклетки, причем получение трансгенных крыс занимало всего несколько недель [65]. У этих животных активность рекомбиназы Cre можно контролировать в конкретном типе клеток или запускать внешними стимулами, такими, как химический сигнал или тепловой шок, что позволяет регулировать экспрессию в определенные временные интервалы. С использованием данной технологии в 2019 были получены три новые трансгенные линии Cre-зависимых крыс с очень высокой эффективностью редактирования генома в мозге — это линии **Cre-Cas9**, **Cas9(D10A)** и **DAT-iCre**, нацеленные на дофаминергические нейроны [5]. Данный подход может быть использован и для нацеливания на другие типы нейронов, в том числе ГАМКергические, что делает эти линии крыс перспективными для нейробиологических исследований. Также технологии CRISPR/Cas были применены для получения приматов с нокаутом генов *Prmt2* [124] и *Bmal1* [82]. Обезьяны макаки с нокаутом BMAL1 демонстрируют снижение сна и психические расстройства. Генетически модифицированные приматы являются очень важными моделями для фундаментальных и прикладных нейробиологических исследований.

Технологии CRISPR/Cas в настоящее время применяются и для нокаутов/нокдаунов генов в нейронах взрослых млекопитающих. Основными трудностями в данном случае являются обеспечение доставки конструкции CRISPR в мозг, специфичность и эффективность редактирования, а также осуществление одновременных нокаутов нескольких генов. Эти трудности в значительной мере удалось преодолеть через создание вирусных платформ, платформ на основе рибонуклеопротеиновых (RNP) комплексов и наноклубков [13, 20, 95, 99]. Так, в 2015 году была создана платформа, использующая аденовирус (AAV) для доставки и экспрессии **CRISPR-spCas9** (spCAS9 — это CAS9, выделенный из *Streptococcus pyogenes* и наиболее часто применяемый в CRISPR-технологиях), в которой кассеты для экспрессии spCAS9 и sgRNA упаковывались в два отдельных вирусных вектора [99]. Эта система была нацелена на ген X-хромосомы

**Mecp2**, кодирующий метил CpG-связывающий белок 2 (MeCP2), дисфункция которого может вызывать когнитивные нарушения и аутистические заболевания [33, 69, 74]. Было показано, что нокдаун *Mecp2* в культивированных нейронах изменяет морфологию дендритного дерева и плотность шипиков, а нокдаун в мозге взрослых животных *in vivo* снижает уровень белка MeCP2 более чем на 60%, при этом специфически нарушается контекстная память, без изменения других видов памяти (тестирование в открытом поле, распознавание новых объектов или поднятый крестообразный лабиринт) [99]. Нацеливание этой системы на гены ДНК-метилтрансфераз (DNMT: *Dnmt1*, *Dnmt3a* и *Dnmt3b*) в мозге взрослой мыши *in vivo* приводит к нокдауну DNMT генов, и, как в случае с *Mecp2*, нарушается формирование контекстной памяти без воздействия на другие виды памяти. DNMT катализируют метилирование ДНК, тем самым регулируя экспрессию генов. *Dnmt1* и *Dnmt3a* высоко экспрессируются в мозге взрослых и необходимы для синаптической пластичности и ДП, а *Dnmt3b* в основном экспрессируется во время развития нервной системы [29]. Таким образом, данные линии крыс являются удобными моделями для изучения когнитивных расстройств и отработки способов их исправления. Описанная выше система оказалась не совсем пригодной в условиях длительных терапий, так как пролонгированная экспрессия Cas9 снижает специфичность. Впоследствии специфичность системы была повышена в 25 раз за счет снижения активности Cas9 4-гидрокситамоксифеном, введенным после модификации целевого гена [20].

Для функционального тестирования синаптических белков в постмитотических нейронах с помощью CRISPR были делетированы кодирующие их множественные гены [40, 104]. В нейронах (культуры срезов гиппокампа) были инактивированы два синаптических белка, субъединицы GluN1 рецептора NMDA и GluA2 — рецептора AMPA, что приводило к полному подавлению синаптической передачи [40]. CRISPR/Cas9 были также успешно применены для функциональной оценки белков постсинаптической плотности в ингибиторных синапсах, в результате была показана важная роль белков InSyn1 и InSyn2 в механизмах синаптического ингибирования [104]. Таким образом, CRISPR/Cas9 оказывается чрезвычайно эффективным для редактирования геномов в нейронах и его использование открывает большие перспективы для понимания молекулярной основы синаптической пластичности. Возможность вводить CRISPR/Cas9 в конкретные клетки позволяет избежать проблемы с летальностью, часто имеющей место при глобальной инактивации генов у животных с нокаутом.



**Рис. 2.** Стратегии CRISPR/Cas для генной коррекции. vSLENDR, HMEJ, HITI, ORANGE, HiUGE – стратегии включения донорских последовательностей на основе CRISPR/Cas.

Другим подходом для доставки CRISPR/Cas для редактирования постмитотических нейронов в мозге взрослых мышей являются невирусные системы на основе рибонуклеопротеинов (RNP), состоящих из белка Cas9 и РНК-гида. RNP-комплексы позволяют десятикратно повысить эффективность редактирования нейронов и удобны для потенциальных терапевтических применений, так как не вызывают активации иммунного ответа [95]. Система CRISPR-Gold на основе Cas9 RNP позволяет редактировать гены в нейронах, астроцитах и микроглии [53]. Например, удаление гена метаболитного рецептора глутамата (mGluR5) с помощью CRISPR-Gold эффективно снижает уровни mGluR5 в полосатом теле и спасает мышей с расстройствами аутистического спектра (синдром ломкой X-хромосомы (FXS)) от патологически повторяющегося поведения. Также разработаны наноконструкции на основе слияния амфифильного пептида R7L10 с RNP Cas9, которые способны проходить через клеточные мембраны и поддерживать высокие уровни экспрессии более недели [77].

Как известно, сложное поведение животных, в особенности когнитивное, задействует множество нейронных сетей с вовлечением значительного количества генов, и, соответственно, для их изучения часто требуется возможность одновременного редактирования нескольких генов. Из бактерий *Prevotella* и *Franciscella* была выделена нуклеаза Cas12a, которая, в отличие от Cas9, использует более короткую направляющую РНК, что делает CRISPR-Cas12a применимым для одновременного редактирования нескольких генов [98]. Так, используя CRISPR/Cas12a с добавлением стабилизатора третичной структуры РНК, были одновременно отредактированы сразу 20 генов [13]. На основе LbCas12a из бактерии *Lachnospiraceae* была создана платформа, с помощью которой было отредактировано несколько генов *in vivo* у *Drosophila* [80]. Разная степень активности LbCas12a в

зависимости от температуры позволила авторам осуществить временное независимое редактирование генов, причем в различных тканях. Таким образом, редактирование генов с использованием Cas12a предоставляет мощную платформу для исследования и управления сложными генетическими программами, лежащими в основе сетевых взаимодействий.

## МОДИФИКАЦИЯ ГЕНОВ В МОЗГЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХСЯ

Кроме нокаут генов, для исследований в нервной системе востребованы также подходы, позволяющие исправлять мутации в целевых генах или заменять гены новыми. Стратегии на основе CRISPR/Cas, применяемые для этих целей, суммированы на рис. 2. В основе стратегий vSLENDR и HMEJ, адаптированных для постмитотических нейронов, лежит вставка донорских последовательностей через гомологически направленную репарацию HDR. Через систему vSLENDR можно вставлять в гены как небольшие последовательности, например, кодирующие метку эпитопа (часть макромолекулы антигена, которая распознается известным антителом), или даже длинные – кодирующие флуоресцентный белок mEGFP [71, 76]. Эпитопная метка позволяет проследить локализацию и динамику белка, кодируемого данным геном, а через флуоресцентный белок возможно визуализировать эндогенные белки в реальном времени *in vivo*. Вирусная доставка донорской матрицы vSLENDR в мозг позволила успешно осуществить редактирование генов CaMKII $\alpha$ , ERK2 и  $\beta$  актина в зрелых нейронах, а также в митотических нейронах и глиих с эффективностью около 30%, что показывает полезность этого метода для фундаментальных нейробиологических исследований [76].

В основе стратегий HITI и HiUGE лежит вставка донорских последовательностей через репарацию NHEJ, и они демонстрируют более высокую

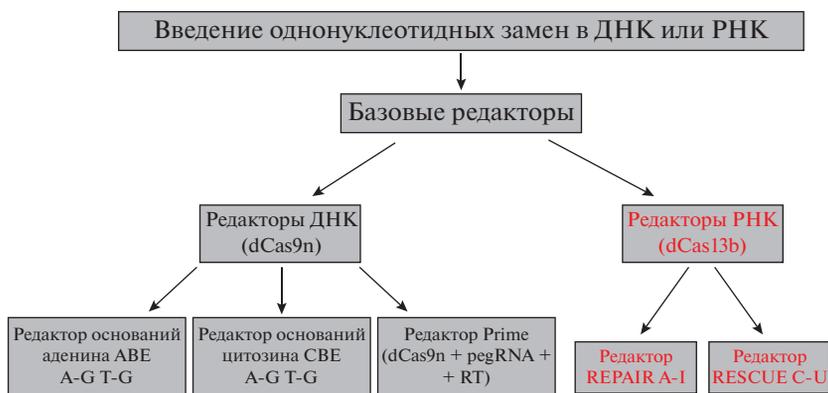


Рис. 3. Редактирование генома через осуществление однонуклеотидных замен в ДНК или РНК.

частоту редактирования и точность репарации чем HDR [88]. Стратегия ННТ была успешно применена для эндогенного мечения белков в постмитотических нейронах [115], а универсальные доноры HiUGE, использующие векторы AAV с инсерционными последовательностями, кодирующими различные функциональные модификации, позволяют быстро модифицировать белки *in vitro/in vivo* для их маркировки с целью динамической визуализации и осуществлять модификации белков, специфичных для нейронов [30]. На основе ННТ были разработаны технологии ORANGE для мультигенного редактирования генома нейронов *in vivo* с целевой геномной интеграцией мекток эпитопа, что позволяет визуализировать синтезированные белки и количественно оценить экспрессию, локализацию и динамику практически любого белка с разрешением на наноразмере [108]. Путем объединения ORANGE с микроскопией сверхвысокого разрешения живых клеток, удалось выявить динамическую организацию рецепторов нейротрансмиттеров и белков синаптического каркаса.

Одним из самых последних достижений в области редактирования генома является “базовое редактирование” — введение однонуклеотидных замен в ДНК или мРНК в живых клетках без использования двухцепочечных разрывов, что устраняет недостатки HDR, связанные с побочными мутациями. Учитывая тот факт, что около половины известных генетических заболеваний вызываются однонуклеотидными полиморфизмами, эти технологии имеют большой потенциал для лечения болезней, в том числе заболеваний, связанных с ментальными нарушениями [8, 39, 84]. Ожидается что исправление точечных мутаций станет одним из основных направлений медицины будущего. Базовые редакторы основаны на слиянии dCas9 (каталитически неактивная Cas9) — с ферментами, которые могут преобразовывать один нуклеотид на другой [39, 84, 88]. К базовым редакторам ДНК относятся редакторы оснований аденина (ABE), цитозина (CBE) и редактор Prime (Рис. 3). Наиболее эффективным и многофунк-

циональным является Prime. Он состоит из dCas, слитой с ферментом обратной транскриптазы (RT), и управляющей РНК редактирования (pegRNA), способной идентифицировать целевой сайт и предоставлять новую генетическую информацию для замены нуклеотидов в ДНК. С помощью Prime не только изменяют основания, но и осуществляют целевые вставки и делеции.

К базовым редакторам РНК относятся REPAIR и RESCUE, с помощью которых возможна замена аденина на инозин, а цитозина на урацил соответственно, что позволяет исправлять мутации на уровне матричной РНК (рис. 3). Современные редакторы могут достигать эффективности редактирования, близкой к 100% в культивируемых клетках млекопитающих и 70% в нейронах взрослых мышей *in vivo* [39].

При изучении функции генов часто возникает необходимость в системах, способных редактировать гены в строгих временных интервалах. С этой целью CRISPR/Cas9 был объединен с системами, которые можно регулировать генетически, оптически или с помощью небольших молекул [24, 48]. В первых индуцибельных системах CRISPR регуляция осуществлялась тетрациклином (Tet) или доксициклином (Dox) через Tet или Dox-зависимые промоторы соответственно [22, 24]. Dox-система была успешно применена для временной регуляции редактирования генома в мозге, причем редактирование инициировалось через корм, содержащий доксициклин, в течении всего одного дня [22]. Кроме того, на основе эндонуклеазы Sa-Cas9 из *Staphylococcus aureus* и вектора AAV были разработаны Cre/Dox-индуцируемые системы CRISPR, с помощью которых было осуществлено редактирование генома в нейронах мышей и человека *in vitro* и *in vivo* в нейронах мозга мыши [50]. Причем временная индукция редактирования осуществлялась с помощью Dox, а пространственная с помощью Cre-рекомбиназы. Однако, Tet- и Cre-индуцируемые системы работают относительно медленно, так как зависят от транскрипции. В связи с чем были разработаны системы, регулируемые посттрансляционно, через ли-



**Рис. 4.** dCas9 – зависимая регуляция экспрессии генов на уровне транскрипции. Системы dCas9-VPR, dCas9-SAM, dCas9-SanTag и SPH применяются для активации транскрипции, системы dCas9-KRAB и dCas9-KRAB MeCP2 применяются для репрессии транскрипции.

ганд-связывающий домен рецептора эстрогена человека (ETR), слитый с Cas9 и запускаемые лигандом ETR 4-гидрокситамоксифеном (4-HT) [20, 58], а также система 4-HT-индуцибельного фермента iCas с носителем ETR2, которая способна осуществлять двунаправленное редактирование путем введения/удаления 4-HT [59].

В последние годы успешно разрабатываются системы редактирования геномов, индуцируемые оптически, что полезно для ограничения редактирования генов или регуляции транскрипции по времени и месту. Оптический контроль функций Cas9 достигается с помощью фотоуправляемых неприродных аминокислот или с помощью индуцированных светом взаимодействий белков. В частности, были созданы фотосоперключаемые белки ps-Cas9, регулируемые освещением, которые успешно опосредуют активацию транскрипции одного гена и редактирование другого в одних и тех же клетках, что позволяет обеспечивать общий метод управления множеством функций [123].

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ПОМОЩИ CRISPR/CAS

Значительный прорыв в использовании CRISPR/CAS для изучения функции генов был достигнут благодаря созданию каталитически неактивного dCas9 [81]. Применение CRISPR-dCAS позволяет обратимо активировать или репрессировать любой ген по замыслу экспериментатора. Это особенно важно для изучения функционирования нервной системы, в частности, молекулярных механизмов когнитивных процессов и улучшения их работы в случае нарушения.

**Регуляция экспрессии генов с помощью dCas9 на уровне транскрипции.** В основе этой технологии регуляции экспрессии генов лежит неспособность каталитически неактивного dCas9 делать разрез ДНК, но способного связывать репрессоры или активаторы транскрипции и доставлять их к регуляторным элементам генов-мишеней. Точность доставки CRISPR-dCAS обеспечивает молекула РНК-гида. В первых системах для активации ген-специфической транскрипции (CRISPRa) ис-

пользовали слияние dCas9 с активаторным доменом белка герпеса (VP64), или трансактивирующей субъединицей NF-kB p65 (p65), а для репрессии (CRISPRi) – бокс-домен (Krüppel associated box) of Kox1 (KRAB), которые направлялись на промоторные или энхансерные последовательности выбранных генов посредством разработанных РНК-гидов [32]. В дальнейшем поколение активаторов dCas9-VP64 и dCas9-P65 было улучшено (эффективность экспрессии была повышена на несколько порядков), системы получили название SunTag, SAM и VPR [88]. Системы, регулирующие экспрессию генов представлены на рис. 4. Кроме того, элементы систем SunTag и SAM были объединены в новом активаторе транскрипции SPH, что позволило с высокой эффективностью регулировать экспрессию нескольких целевых генов одновременно в мозге *in vivo*, используя трансгенных мышей, несущих Cre-индуцируемую систему SPH, причем активность рекомбиназы Cre регулировалась пространственно-временным образом [121]. Таким образом, учитывая наличие полногеномных библиотек sgRNA, CRISPRa мыши SPH могут широко использоваться в исследованиях механизмов функционирования ЦНС. Система dCas9-VP64 была оптимизирована для мультигенной активации в нейронах *in vivo/in vitro* через доставку в лентивирусных (LV) частицах с отдельной экспрессией dCas9-VP64 и sgRNA под контролем нейрон-специфического промотора синапсина [89]. Эта система, нацеленная на уникальные промоторы нейротрофического фактора Bdnf, продемонстрировала способность к специфической индукции различных транскриптов BDNF *in vivo* в различных структурах мозга.

Для подавления экспрессии генов в ЦНС на уровне транскрипции *in vivo* на основе dCas9 было разработано несколько репрессоров [116]. Наиболее высокоэффективным и специфичным оказался dCas9-KRAB-MeCP2, способный подавлять кодирующие и некодирующие гены и обеспечивать одновременную репрессию нескольких выбранных генов. Высокую эффективность этого репрессора авторы объясняют совместной работой двух доменов. Домен KRAB репрессирует транскрипцию посредством взаимодействия с

**KAP1**, обеспечивающих каркас для набора корепрессоров, включая гетерохроматиновый белок 1, гистоновые деацетилазы и SETDB1. Домен репрессии транскрипции **MeCP2** связывается с другим набором регуляторов транскрипции, включая ДНК-метилтрансферазу DNMT1 и корепрессорный комплекс SIN3A-гистондеацетилазы.

Параллельно была разработана система **CRISPRi** с использованием репрессора **dCas9-KRAB** и **LV**-вектора, способная с эффективностью порядка 90% осуществлять инактивацию генов, необходимых для высвобождения нейромедиаторов: синаптогамина 1 (**Syt1**), связанного с везикулами мембранного белка 1 (**Vamp1**), синтаксина 1A (**Stx1a**) и **Snar25** [120]. Далее эта система была использована для подавления экспрессии синаптогамина (**Syt1**) в глутаматергических (**CaMKII $\alpha$ -dCas9-KRAB**) и ГАМКергических (**VGAT-dCas9-KRAB**) нейронах гиппокампа мышей *in vivo*. Анализ показал, что экспрессия **Syt1** полностью устраняется клеточно-специфическим образом, при этом практически полностью исчезают возбуждающие постсинаптические потенциалы в глутаматергических нейронах и тормозные – в ГАМКергических нейронах [120]. Ингибирование функционирования глутаматергических нейронов посредством **CRISPRi** вызывает ухудшение пространственной памяти по сравнению с животными, у которых ингибировали ГАМКергические нейроны, однако, у них лучше формировалась долговременная память, индуцируемая страхом [120]. Таким образом, избирательное нацеливание на **Syt1** в данных типах нейронов позволяет изменять соотношение торможения и возбуждения в зубчатой извилине гиппокампа и влиять на формирование долговременной памяти. **CRISPR-dCas9-KRAB** был применен также для репрессии гена риска психических заболеваний анкирина 3 (**ANK3**). В результате, были раскрыты ранее неизвестные базовые клеточные и молекулярные механизмы, лежащие в основе специфического для мозга нарушения экспрессии **ANK3**, которые могут быть связаны с психическими заболеваниями [31].

**Применение CRISPR-Cas13d и CRISPR-CasRx для регуляции экспрессии генов через манипуляции с матричной РНК.** Возможность регуляции экспрессии генов через манипулирование с РНК очень перспективна для исследований, связанных с транскриптомом и терапевтическими разработками, направленными на борьбу с когнитивными нарушениями так как она позволяет избежать необратимые эффекты, вызванные непредвиденным мутагенезом в случае манипуляций с геномной ДНК. И здесь будущее в значительной мере принадлежит технологиям **CRISPR/Cas** [7, 49]. Для возможности манипуляций с РНК в последние годы разработаны **CRISPR**-системы, нацеленные на РНК-транскрипты, в том числе содержащие патогенные мутации, что стало возможным благодаря открытию **CRISPR-Cas**, способных идентифицировать и разрезать не ДНК, а РНК.

Так, были найдены и усовершенствованы бактериальные белки **Cas13d**, **CasRx** и **NmeCas9**. **CasRx** отличается высокой компактностью и может быть упакован в аденовирус, что облегчает его доставку. **CRISPR-NmeCas9** способен к распознаванию как ДНК, так и РНК-мишеней и расщеплению независимо от РАР, что делает перспективным его использование как для модификаций как ДНК, так и РНК [86]. Каталитически неактивные **dCasRx**, нацеленные на цис-элементы пре-мРНК, были успешно применены для регулирования соотношения изоформ белка тау в нейронной модели лобно-височной деменции [49], а нацеленные на подавление мРНК РНК-связывающего белка **Ptbp1** позволили индуцировать нейроны с дофаминергическими свойствами в стриатуме (модель болезни Паркинсона) и тем самым улучшить двигательные дефекты у мышей [122]. Еще одним подходом к регуляции экспрессии генов на уровне РНК является манипуляция с метилированием РНК. Была создана фотоактивируемая **CRISPR-Cas13**-зависимая система редактирования метиладенозина (**m6A**), важной формы метилирования в мРНК, названная **PAMECR** [119]. Для этого светоиндуцируемые гетеродимеризующиеся белки **SIBN** и **CRY2PHR** были слиты с каталитически неактивными **dCas13** и **m6A** соответственно, что обеспечило пространственно-временное управление редактированием **m6A** в ответ на синий свет одновременно в нескольких различных мРНК. Система позволяет осуществлять удаленное управление редактированием РНК и является многообещающей оптогенетической платформой для применения в эпигенетической инженерии, визуализации и в будущих терапевтических разработках [119].

## РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЧЕРЕЗ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАНИПУЛЯЦИИ

Исследования последних двух десятилетий выявили многочисленные нарушения эпигенетической регуляции экспрессии генов, связанные с когнитивными дисфункциями. Эпигенетическая регуляция экспрессии генов осуществляется главным образом через метилирование ДНК и/или посттранскрипционные модификации гистонов, а также посредством изменения биогенеза микроРНК. Эпигенетические процессы широко вовлекаются в регуляцию онтогенеза, созревание нейронов мозга и различные адаптационные процессы, в том числе формирование долговременной памяти [1, 3, 21]. Через воздействие на эпигенетические надстройки возможно влиять на экспрессию генов и потенциально использовать в терапии различных заболеваний, что до недавнего времени являлось достаточно сложной задачей, главным образом связанной с трудностями обеспечения точечной регуляции определенных генов. В связи с развитием технологий **CRISPR/Cas** начался бурный прогресс в этой области [61, 117]. Вышеописанный каталитически неактив-

ный белок **dCas9** был наделен способностью доставлять на определенный участок геномной ДНК белки регулирующие эпигенетические модификации ДНК и гистонов, что позволило регулировать экспрессию генов эпигенетическим путем.

**Применение CRISPR-dCas9 для изменения метилирования ДНК.** Метилирование ДНК играет важную роль в регуляции экспрессии генов, в том числе в развитии нервной системы и регуляции адаптивных процессов, включающих реакцию на стресс и когнитивные функции [21]. Метилирование ДНК — это обратимая модификация ДНК, происходящая в результате присоединения метильной группы к цитозину в составе динуклеотида CpG. Процесс регулируется ДНК метилтрансферазами и деметилазами. Метилтрансферазы осуществляют метилирование ДНК, тем самым блокируя экспрессию генов. Деметилазы удаляют метильные группы, чем активируют экспрессию. Метилирование генов в промоторных областях позволяет моделировать сложные процессы в нейрональных сетях. Нарушение метилирования ДНК часто приводит к когнитивным нарушениям и различным патологиям работы ЦНС [21, 26].

Относительно недавно было показано, что на основе CRISPR-Cas технологий можно целенаправленно регулировать метилирование генов-мишеней. При этом **dCas9**, лишенный нуклеазной активности, доставляет на определенный участок геномной ДНК ферменты, модифицирующие метилирование ДНК, а молекула РНК-гида обеспечивает точность доставки к гену-мишени [45, 54, 62]. Таким образом, на уровне регулирования метилирования можно включать и выключать определенные гены для изучения их функций, либо выключать поврежденные гены с целью терапии заболеваний. Схема эпигенетической регуляции генома с помощью системы CRISPR-dCas9 на уровне метилирования ДНК представлена на рис. 5а.

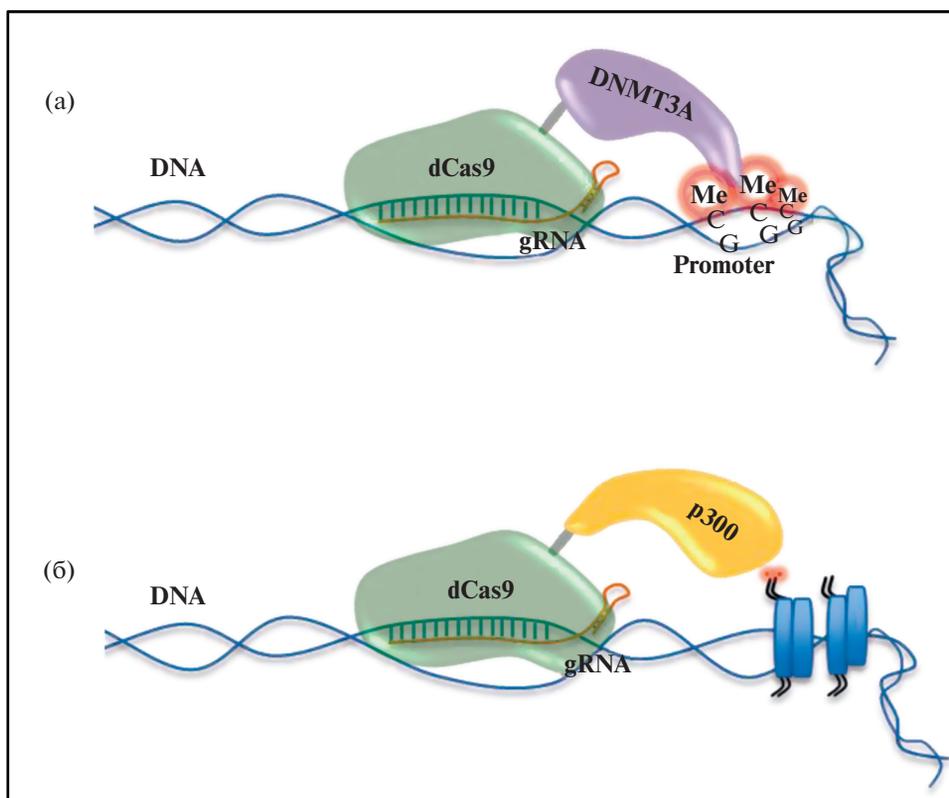
Для целевого редактирования метилирования ДНК в интроне 1 была разработана система **CRISPR-dCas9-DMNT3A**, основанная на слиянии **dCas9** с каталитическим доменом ДНК-метилтрансферазы 3А (DNMT3A) [45]. В результате было индуцировано гиперметилирование ДНК в интроне 1 SNCA дофаминергических нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациента с БП, нарушенное при БП, что восстанавливало жизнеспособность клеток. В 2016 году эпигенетическое регулирование метилирования ДНК удалось осуществить у млекопитающих через слияние **dCas9** с деметилазой **TET1**. Было показано, что **LV** система **dCas9-TET1/sgRNA** нацеленная на деметилирование промотора нейротрофического фактора BDNF в нейронах, увеличивает экспрессию BDNF в 6 раз [62].

Предприняты также попытки редактирования, нарушенного метилирования ДНК, для потенци-

ального лечения распространенной генетической формы умственной отсталости у мужчин — синдрома ломкой X-хромосомы (**FXS**). Это заболевание вызывается подавлением гена **FMR1**, связанным с многократным удвоением CGG островков (>200) в области 5'UTR FMR1, сопровождаемым гиперметилированием [78]. Направленное деметилирование повторов CGG в патологическом локусе **FMR1** с помощью **dCas9-Tet1/sgRNA** увеличивало ацетилирование гистонов H3K27 и триметилирование H3K4, уменьшало триметилирование H3K9 на промоторе FMR1, переключало статус гетерохроматина промотора **FMR1** в активное состояние и восстанавливало экспрессию **FMR1** в нейронах FXS, индуцированных из плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов FXS [63]. Полученные нейроны восстанавливали фенотип дикого типа и полноценные электрофизиологические характеристики. Экспрессия FMR1 в отредактированных нейронах длительно сохранялась *in vivo* после внедрения в мозг мыши. Наконец, деметилирование повторов CGG в постмитотических нейронах FXS также реактивировало **FMR1** и обращало вспять спонтанную гиперактивность. Таким образом, авторы полагают, что деметилирование CGG через **dCas9-Tet1/sgRNA** может служить потенциальной стратегией для терапии FXS [63].

**Применение CRISPR-dCas9 для эпигенетической модификации гистонов.** Гистоны — это небольшие белки, необходимые для сборки и упаковки ДНК в компактные структуры нуклеосомы. Кроме того, гистоны играют важную роль в регуляции экспрессии генов через ремоделирование хроматина. В зависимости от эпигенетических модификаций гистонов, в частности, ацетилирования и метилирования, изменяется их сродство к ДНК, чем контролируется доступ регуляторных белков и РНК-полимераз к сайтам связывания ДНК и, соответственно, регулируется экспрессия генов. Показано, что ацетилирование и метилирование гистонов играют важную роль в формировании ДП, а их нарушение приводит к значительным когнитивным дисфункциям при различных заболеваниях [1]. Повышенный интерес к ацетилированию и метилированию вызван потенциальной возможностью через эти процессы влиять на формирование долговременной памяти в случае ее нарушения. Степень ацетилирования гистонов регулируется гистон-ацетилтрансферазами (НАТ) и гистон-деацетилазами (HDAC). Высокая степень ацетилирования приводит к активации транскрипции, а деацетилирование вызывает ингибирование. Метилирование гистонов является более сложным процессом, контролируется гистон-метилазами и деметилазами и приводит как к индукции, так и репрессии транскрипции в зависимости от степени и сайта метилирования [1].

В последние годы на основе CRISPR-Cas9 были созданы технологии, позволяющие изменять гистоновые модификации, тем самым обратно регулировать экспрессию целевых генов, а также изучать механизмы их регуляции. Так, для индук-



**Рис. 5.** Эпигенетическая регуляция генома с помощью системы CRISPR-dCas. Каталитически неактивный белок dCas9 обладает способностью связываться с ДНК, а также с доменами для целевого редактирования эпигенома. Точность доставки к гену-мишени обеспечивает молекула РНК-гида (gRNA = crRNA + tracrRNA). (а) dCas9 слитый с ДНК-метилтрансферазами (например, **DNMT3A**) способен влиять на экспрессию генов через метилирование промоторов. (б) dCas9 слитый с ацетилтрансферазами, в частности **p300**, способен ацетилировать гистоны, тем самым активируя экспрессию генов.

ции ацетилирования гистонов была создана программируемая CRISPR/dCas9-зависимая ацетилтрансфераза (**dCas9-p300**), способная катализировать ацетилирование гистона H3 по лизину 27 в его сайтах-мишенях, для чего каталитически неактивная dCas9 была слита с каталитическим ядром ацетилтрансферазы человека **p300** [35]. Точность доставки обеспечивает молекула РНК-гида. Было показано, что **dCas9-p300** индуцирует устойчивую и высокоспецифичную транскрипционную активацию генов-мишеней, как от промоторов, так и энхансеров, тем самым позволяя не только активировать экспрессию генов, но и исследовать взаимосвязь между эпигеномом и контролем транскрипции.

На основе dCas9 была также создана конструкция (**dCas9-HDAC8**), позволяющая ингибировать экспрессию генов за счет деацетилирования гистонов путем слития с dCas9 с гистондеацетилазой **HDAC8** [16]. **dCas9-p300** и **dCas9-HDAC8** были использованы для активации или блокирования ацетилирования гистонов локально на энхансерах нейронального гена *Fos* с целью изучения его регуляции [16]. Ген *Fos* относится к немедленным ранним генам, он кодирует один из основных

транскрипционных факторов, участвующих в различных адаптивных процессах ЦНС, в том числе в когнитивных [1].

Несколько ранее Bohnsack с коллегами [9] показали, что усиление ацетилирования гистонов в промоторе гена **Gabra1**, кодирующего рецептор  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), с использованием **dCas9-P300** предотвращает вызванное этанолом снижение его экспрессии в культивируемых корковых нейронах. Рецепторы ГАМК опосредуют большую часть тормозной нейротрансмиссии в мозге взрослого человека. Таким образом, полагают, что данная технология может быть полезна для разработки терапевтических средств лечения алкогольной зависимости, эпилепсии и стресса, при которых экспрессия *Gabra1* нарушена [9]. CRISPR технологии редактирования эпигенома были использованы для пространственного и временного сетевого контроля экспрессии генов. Так, нацеливание комплекса **dCas9-p300** на дистальные нерегулирующие области генома перепрограммирует состояние хроматина этих областей в элементы, подобные энхансерам [51]. В частности, контролируя пространственное расстояние этих индуцированных энхансеров до

промотора, можно жестко регулировать амплитуду экспрессии гена.

На основе dCas9 была также создана конструкция **CRISPR/dCas9 SunTag-JARID1A**, позволяющая ингибировать экспрессию генов за счет деметилирования гистона **H3K4me3** путем слияния dCas9 с каталитическим доменом деметилазы **JARID1A**. Конструкция успешно была применена для ингибирования экспрессии  $\alpha$ -синуклеина (SNCA), повышение которого связано с болезнью Паркинсона [34]. Таким образом, манипулирование эпигеномом при помощи CRISPR/dCas9 становится многообещающей стратегией для персонализированной медицины, в том числе для терапии нейродегенеративных патологий [92].

**Применение CRISPR-dCas9 для манипуляций с микроРНК.** МикроРНК – это высоко консервативные, небольшие молекулы РНК, каждая из которых может регулировать экспрессию сотен генов через репрессию или деградацию их матричных РНК. Таким образом, нарушение регуляции даже одной микроРНК может оказывать значительный системный эффект. Наиболее высок и разнообразен уровень экспрессии микроРНК в ЦНС. В последние годы было показано, что микроРНК активно вовлекаются в формирование ДП, а нарушение их биогенеза может являться причиной когнитивных дисфункций при шизофрении, расстройствах аутистического спектра и нейродегенеративных патологиях [2, 57]. Потенциально, терапия этих заболеваний возможна через воздействие на метаболизм микроРНК [4]. Путем репрессии посредством CRISPRi или активации через CRISPRa возможен временный или постоянный контроль экспрессии miRNA. Регуляция транскрипции miRNA также может быть обеспечена dCas9, слитой с эпигенетическими модификаторами ДНК или гистонов, а также CasRx-опосредованном нокдауне РНК о которых сообщалось выше.

Так как микроРНК служат важнейшими биомаркерами множества заболеваний, они востребованы для клинической диагностики. Недавно был создан первый микрожидкостный электрохимический биосенсор с использованием CRISPR/Cas13a для локального обнаружения микроРНК, в котором количественная оценка микроРНК осуществляется без их амплификации. Биосенсор на основе CRISPR высокочувствителен и позволяет регистрировать микроРНК в объеме менее 0.6 мкл [11]. И более того, данный биосенсор был усовершенствован для параллельного обнаружения нескольких микроРНК [12].

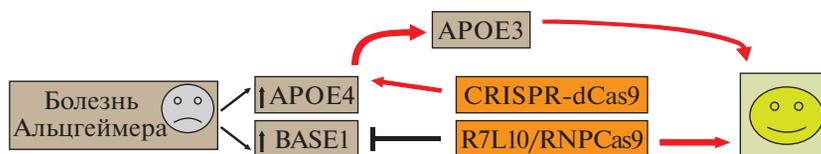
На основе различия в специфичности экспрессии микроРНК в различных типах клеток, были разработаны системы CRISPR/Cas9, позволяющие проводить редактирование генома в конкретной клеточной популяции, не затрагивая другие органы и ткани [36, 38]. Так, Хиросава и его коллеги разработали miRNA-чувствительную систему CRISPR/Cas9 с использованием пере-

ключателей основе miR-21 или miR-302, которые посттранскрипционно ослабляли активность Cas9 только в клетках-мишенях и могли по-разному контролировать редактирование генома через эндогенные активности miRNA в гетерогенной популяции клеток. Эта система переключения miR-Cas9 обеспечивает основу для селективного редактирования генома на основе информации о внутриклеточных miRNA.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С КОГНИТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ

Исследования последних 2-х десятилетий выявили многочисленные нарушения регуляции экспрессии генов, связанные с когнитивными дисфункциями при психических и нейродегенеративных заболеваниях. Большие надежды на возможность терапии этих патологий связаны с технологиями CRISPR/Cas. В основе многих когнитивных нарушений лежит нейродегенерация. В первую очередь это относится к болезням Альцгеймера и Паркинсона, старческой деменции и инсультам. В 2020 году вышли две интересные статьи, посвященные восполнению потери нейронов и восстановлению синаптических связей с использованием **CRISPR/Cas** [75, 122]. Так, для пополнения нейронов, в нейроны (посредством CRISPR-CasRx нацеленной на РНК) были преобразованы глиальные клетки, а именно, глия Мюллера в ганглии сетчатки – клетки (RGC) [122]. Преобразование было осуществлено через подавление РНК-связывающего белка Ptbp1. В результате были облегчены симптомы заболевания, связанные с потерей этих нейронов. Кроме того, применение CRISPR-CasRx позволило индуцировать нейроны с дофаминергическими свойствами в стриатуме и тем самым улучшить двигательные дефекты у мышей (модель болезни Паркинсона). Авторы полагают, что преобразование глии в нейрон с помощью CasRx-опосредованного нокдауна Ptbp1 представляет собой многообещающий генетический подход *in vivo* для лечения различных заболеваний, вызванных потерей нейронов. Кроме того, при помощи CRISPR/dCas9-KRAB-зависимого эпигенетического подавления экспрессии белка **PTEN**, негативного регулятора сигнального пути **PI3K/AKT/mTOR**, участвующего в процессах регенерации, успешно проведено стимулирование регенерации аксонов и функциональное восстановление связей в ЦНС после травмы [75]. Подавление транскрипции PTEN посредством CRISPR/dCas9-KRAB было осуществлено в линиях клеток человека и в нервных клетках, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (**ИПСК**) человека, через индукцию метилирования и деацетилирования гистона H3 на промоторе PTEN.

**Болезнь Альцгеймера.** Болезнь Альцгеймера является самым сложным нейродегенеративным за-

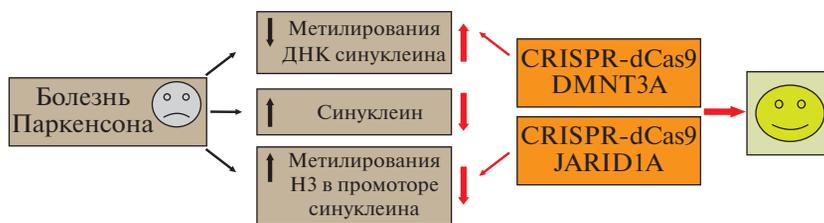


**Рис. 6.** Использование технологий CRISPR/Cas9 для подавления экспрессии генов, ассоциирующихся с болезнью Альцгеймера. *APOE4*, *Base1* – гены, повышенная экспрессия которых наблюдается при болезни Альцгеймера. *R7L10/RNP CAS9* – технология CRISPR/Cas9 основанная на слиянии амфифильного пептида R7L10 с RNP CAS9.

болеванием и характеризуется многофакторной патологией, что определяет незначительные успехи в лечении. Заболевание быстро прогрессирует с возрастом, приводит к значительным когнитивным нарушениям и завершается летальным исходом. Самым большим генетическим фактором риска спорадической болезни Альцгеймера (*sAD*) считается повышенный вариант аполипопротеина E4 (*APOE4*). Чтобы понять, как *APOE4* влияет на клетки головного мозга человека, участвующие в патогенезе *AD*, были применены технологии **CRISPR/Cas9** и клетки **ИПСК** [56]. В результате выявлены сотни дифференциально экспрессирующихся генов, при этом клетки, происходящие из *APOE4* **ИПСК**, воспроизводили многие фенотипы, связанные с *sAD*. А именно, нейроны демонстрировали повышенное количество синапсов и повышенную секрецию  $A\beta$ , в астроцитах нарушалось поглощение  $A\beta$  и накапливался холестерин, а в микроглиеподобных клетках нарушался иммунный ответ. Причем, преобразование *APOE4* в *APOE3* в клетках мозга, полученных из **ИПСК** от пациентов с болезнью Альцгеймера, было достаточным для ослабления множества патологий, связанных с этой патологией [56]. Технологии **CRISPR/Cas9** для подавления экспрессии генов, ассоциирующихся с болезнью Альцгеймера обобщены на рис. 6. Кроме того, удалось снизить секрецию  $A\beta$ , уменьшить содержание бляшек и улучшить долговременную память у трансгенных мышей **5XFAD** (модель *AD*) через введение в *CA3* область гиппокампа наноконплексов на основе слияния амфифильного пептида **R7L10** с **RNP Cas9**, направленных на  $\beta$ -протеазу 1 (**Base1**), индуцирующую образование  $A\beta$  [77]. При болезни Альцгеймера наблюдается также нарушение аутофагии (процесс, при котором внутренние компоненты клетки доставляются внутрь ее лизосом или вакуолей и подвергаются в них деградации). Одной из причин нарушения аутофагии при *AD* является мутация пресенилина 1 (**PS1**), или снижение **PS1** в человеческом мозге с возрастом. Посредством **CRISPR/Cas9** из клеток **ИПСК** человека были получены нервные стволовые клетки (**NSC**) с дефицитом **PS1**, в которых наблюдалось снижение аутофагии. Было показано, что дефицит **PS1** вызывает подавление аутофагии в человеческих **NSC** через ингибирование регуляторного каскада **ERK/CREB** [18].

Для лучшего понимания молекулярного механизма продукции  $A\beta$ , разработан метод генетического скрининга на основе системы **CRISPR/Cas9**, что позволило идентифицировать новый негативный регулятор продукции  $A\beta$  кальций и интегрин-связывающий белок 1 (**CIB1**) [17]. Более того, обнаружено, что уровень мРНК **CIB1** снижен на ранней стадии БА. Таким образом, **CIB1** может служить маркером для диагностики ранней стадии заболевания.

**Болезнь Паркинсона** относится к нейродегенеративным заболеваниям, которые прогрессируют с возрастом. В основе заболевания лежит избирательная потеря дофаминергических нейронов. Патологическим признаком **БП** являются повышенные уровни  $\alpha$ -синуклеина (**SNCA**) и его агрегация в тельцах Леви [11]. Альфа синуклеин, кодирующийся геном **SNCA**, находится в пресинапсе и участвует в высвобождении медиатора, а также модулирует процессы репарации ДНК. Физиологические уровни **SNCA** необходимы для поддержания функции нейронов. В последние годы было показано, что ключевую роль в болезни Паркинсона играет эпигенетическая дерегуляция  $\alpha$ -синуклеина. Причем в мозге **БП** наблюдается как изменение метилирования ДНК в интроне 1 **SNCA** [45], так и нарушение метилирования гистона **H3** в позиции **K4me3** на промоторе **SNCA** [34], что влияет на транскрипцию **SNCA**. Через систему **CRISPR-dCas9-DMNT3A** было индуцировано гиперметилирование ДНК в интроне 1 **SNCA** дофаминергических нейронов, полученных из клеток **ИПСК** пациента с **БП**, что подавило экспрессию **SNCA** и восстановило жизнеспособность клеток [45]. Технологии **CRISPR/Cas9** для подавления экспрессии генов, ассоциирующихся с болезнью Паркинсона обобщены на рис. 7. С другой стороны, в посмертном головном мозге пациентов с **БП** на промоторе **SNCA** черной субстанции наблюдается значительное повышение содержание гистона **H3K4me3** – эта эпигенетическая модификация приводит к индукции экспрессии генов и, соответственно, увеличивает содержание **SNCA** [34]. Для снижения экспрессии **SNCA** была разработана система деметилирования гистона **H3K4me3** на основе **CRISPR/dCas9**, в которой каталитический домен деметилазы **JARID1A** был направлен на промотор **SNCA**. Применение **CRISPR/dCas9 SunTag-JARID1A** значительно снизило содержание **H3K4me3** на промоторе **SNCA** и



**Рис. 7.** Использование технологий CRISPR/Cas9 для регуляции экспрессии генов, ассоциирующихся с болезнью Паркинсона. При болезни Паркинсона наблюдается изменение метилирования ДНК в гене *SNCA* и нарушение метилирования гистона H3 на промоторе *SNCA*. Через манипуляции с метилированием посредством CRISPR-технологии возможно значительное снижение экспрессии *SNCA* и замедление развития заболевания.

одновременно снижало уровень  $\alpha$ -синуклеина как в линии нейрональных клеток SH-SY5Y, так и в идиопатических дофаминергических нейронах, происходящих от ИПСК БП. Таким образом, эти два эпигенетических подхода с применением CRISPR/dCas9, направленные на модификации ДНК и гистонов и снижение синтеза *SNCA*, обладают значительным потенциалом для терапии БП.

**Старение.** Хорошо известно, что с возрастом часто происходит ухудшение способностей к обучению, нарушается концентрации внимания, память и некоторые другие психоневрологические характеристики. Важную роль в метаболизме мозга играет микроглия, которая обеспечивает фагоцитарную очистку белковых агрегатов и клеточного мусора. Эта функция ухудшается при старении и нейродегенеративных заболеваниях. Скрининги нокауты CRISPR/Cas9 идентифицировали негативный регулятор фагоцитоза – рецептор В-клеток CD22, который активировался в стареющей микроглии [79]. Авторы показали, что ингибирование CD22 *in vivo* способствует удалению остатков миелина, олигомеров  $\beta$ -амилоида и фибрилл  $\alpha$ -синуклеина. Долгосрочная блокада функции CD22 антителами перепрограммирует микроглию в исходное состояние и улучшает когнитивные функции у старых мышей. Технологии CRISPR/Cas9 для подавления экспрессии генов, ассоциирующихся со старением обобщены на рис. 8. Полученные данные важны для стратегии восстановления гомеостаза в стареющем мозге. Кроме того, комплекс CRISPR-dCas9 успешно использовали для улучшения когнитивных способностей при старении через транскрипционную активацию гена долголетия *Klotho*, количество которого снижается с возрастом [15, 118]. Белок *Klotho* способствует выживанию нейронов и ремиелинизации демиелинизированных аксонов [15, 113]. Сверхэкспрессия *Klotho* увеличивает продолжительность жизни у мышей примерно на треть, а активация гена *Klotho* может потенциально облегчить симптомы и/или предотвратить прогрессирование когнитивных нарушений, связанных с нормальным старением и нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Альцгеймера и рассеянный склероз, а также невропатологиями, особенно в пожилых, подвер-

женных стрессу группах населения [25, 68, 109, 118]. Таким образом, повышение уровня *Klotho* посредством CRISPR-dCas9 имеет большой терапевтический потенциал для улучшения когнитивных функций. Важную роль в процессах старения играют теломеры и теломеразы [10]. Укорочение теломер связано с клеточным старением. Благодаря использованию CRISPR/Cas для модификации теломер и теломераз, а также генов, которые на них влияют, в последние годы был сделан огромный шаг вперед для перспектив использования этих молекул в качестве важнейших мишеней для увеличения продолжительности и качества жизни [10]. С целью моделирования старения, в клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y теломеры мгновенно удаляли при помощи системы CRISPR-Cas9, нацеленных на повторы теломер, что приводило к дисфункции митохондрий и снижению жизнеспособности клеток. Кроме того, наблюдались изменения в уровнях белков, ассоциированных с болезнью Паркинсона, а экспрессия  $\alpha$ -синуклеина на фоне удаления теломер приводила к усилению агрегации белка, что свидетельствует о положительном прямом взаимодействии между старением и патогенезом БП [47].

**Болезнь Хантингтона [HD]** является моногенным нейродегенеративным заболеванием, в настоящее время неизлечимым. Заболевание вызвано аномальным повторением тринуклеотидного повтора CAG в экзоне 1 гена хантингтина [*HTT*], что приводит к продукции мутантного белка, который образует включения и избирательно разрушает нейроны в полосатом теле и других прилегающих структурах. Чем больше количество копий CAG, тем раньше болезнь проявляется. Было показано, что нуклеаза Cas9 из *Staphylococcus aureus* (небольшой ортолог Cas9), может быть упакована вместе с направляющей РНК в единый вектор AAV и использована для блокады экспрессии мутантного гена *HTT* путем стимулирования мутаций, вызывающих сдвиг рамки считывания. Введение этой конструкции в полосатое тело мышей *R6/2* (модель HD) вызывало выключение мутантного гена *HTT* и приводило к уменьшению нейрональных включений почти на 50% [27]. Кроме того, экспансия микросателлитных повторов в ДНК продуцируют создание патогенных видов



**Рис. 8.** Использование технологий CRISPR/Cas9 для регуляции экспрессии генов, ассоциирующихся со старением. С возрастом наблюдается снижение функций микроглии, понижается экспрессия гена долголетия **Klotho** и снижается количество нейронов. С помощью CRISPR-технологий возможно замедление этих процессов.

РНК. В связи с этим, разрабатываются технологии для нацеливания на эти РНК для диагностических и терапевтических целей. Одна из них, программируемая система CRISPR-RCas9, способна визуализировать и устранять токсичные РНК с устранением характерных признаков заболевания [7]. С другой стороны, постоянное подавление экспрессии мутантного НТТ с помощью CRISPR/Cas9 в полосатом теле мышей с нокаутом **HD140Q**, экспрессирующих мутантный НТТ человека, эффективно истощало агрегаты НТТ, ослабляло раннюю невропатологию и уменьшало двигательный дефицит [114]. Была создана линия ИПСК из мононуклеарных клеток крови пациента с HD с 38 повторами CAG в экзоне 1 НТТ. Линия ИПСК сохранила мутацию, вызывающую заболевание, и выразила маркеры плюрипотентности. Данная линия представляет собой перспективную модель для исследования болезни [66]. Таким образом, редактирование генов, опосредованное CRISPR/Cas9 и использование линий ИПСК потенциально может быть использовано для лечения **HD** и других нейродегенеративных расстройств, а также устранения нейрональной токсичности во взрослом мозге.

**Когнитивные нарушения и нарушения аутистического спектра.** Данные нарушения часто связаны с дисфункцией метилирования в гене **FMR1**, кодирующем белок **FMRP** (fragile X mental retardation protein), или мутациями ядерного белка **MeCP2** [53, 112]. Так, при синдроме ломкой X-хромосомы (**FXS**), связанном с экспансией повторов **CGG** и их гиперметилированием, в гене **FMR1** наблюдается снижение содержания **FMRP**, вызывающее нарушение трансляции мРНК, участвующих в регуляции синаптической пластичности, что приводит к умственной отсталости и аутизму. При **FXS** наблюдается также ненормально высокое усиление сигналинга, индуцируемого метаболитом рецептором глутамата (**mGluR5**). Применение системы **CRISPR-Gold**, нацеленной на подавление гена **mGluR5** в полосатом теле мышей с нокаутом **FMRP** (модель аутизма) позволило снизить уровень **mGluR5** на 40–50% и улучшить некоторые поведенческие характеристики без появления иммунного ответа [53]. Повышенное внимание исследователей вызывает также ген **MECP2**, связанный с X-хромосомой, мутации в котором вызывают расстройства аутистического спектра, включая **синдром Ретта**

[33]. Ген **MECP2** кодирует белок **MeCP2**, который регулирует экспрессию генов через связывание с метилированными кодонами **CGG** геномной ДНК. Метилирование ДНК является важной эпигенетической меткой с широкими физиологическими функциями, включая развитие нейронов. Соответственно, дисфункция **MeCP2** приводит к значительным физиологическим нарушениям. При дисфункции **MeCP2** наблюдается нарушение двигательной функции и координации, тревожное поведение, сложности с обучением, нарушение сна и потеря болевой чувствительности. С появлением технологий CRISPR/Cas появилась надежда на возможность досконального изучения функций **MeCP2**, с дальнейшей терапией аутистических расстройств, связанных с его мутацией. С помощью CRISPR/Cas была создана линия мышей с делецией в домене AT-hook 1 **MECP2**, самцы которой воспроизводят отдельные фенотипы, наблюдаемые у людей с заболеваниями аутистического спектра, в том числе тревожное поведение и дефицит обучения [112]. У этих мышей в коре головного мозга происходит экспрессия мутантного **MeCP2** и изменена экспрессия нескольких генов, которые специфически экспрессируются в тормозных нейронах мозга. Авторы полагают, что домен AT-hook 1 является критическим для функции белка **MeCP2**.

Известно, что 36% мутаций в **MeCP2**, вызывающих синдром Ретта, определяются однонуклеотидными заменами **G > A** или **C > T** [94]. Таким образом, замена гуанизина на аденозин потенциально может восстановить функцию **MeCP2**. В качестве подхода, Sinnatou и коллеги использовали редактирование оснований на уровне мРНК у мышей **MECP2317G > A (R106Q)** с синдромом Ретта. Для редактирования оснований использовали AAV систему, экспрессирующую каталитический домен аденозиндеаминазы, действующей на РНК, и гид, направленный на **MeCP2**. Через 1 мес. в трех разных популяциях нейронов гиппокампа 50% РНК **MeCP2** перекодировалось, а локализация белка **MeCP2** в гетерохроматине восстанавливалась до 50% от уровней дикого типа [94]. Таким образом, авторы полагают, что программируемое редактирование РНК может быть использовано для исправления мутаций в мышечных моделях неврологических заболеваний. Интересно, что пациенты с мутацией **MECP2** часто демонстрируют нарушение сна, в связи с этим

MeCP2 предложен и в качестве терапевтической мишени для нормализации сна [103].

С использованием системы CRISPR-опосредованного скрининга Perturb-Seq проведена функциональная оценка 35 генов риска расстройства аутистического спектра/задержки нервного развития (ASD/ND) в головном мозге *in vivo* [42]. Для этого были произведены CRISPR-индуцированные нокауты этих генов в развивающемся мозге мыши в утробе матери, с последующим одноклеточным секвенированием РНК нарушенных клеток в постнатальном мозге. В результате было показано, как различные мутации влияют на типы и состояния клеток в развивающемся организме, и были выявлены нейрональные и глиальные аномалии, связанные с генами риска аутизма.

**Шизофрения.** Генетически сложное полигенное заболевание, которое часто связано с когнитивными нарушениями и широко распространено в популяции. Чтобы обнаружить механизмы, лежащие в основе полигенных заболеваний, важно понять функции генов, связанных с заболеванием *in vivo*, и определить приоритетность генов-кандидатов для дальнейшего анализа. Удобным объектом для подобных исследований являются рыбки данио, которые широко используются как модельные системы для раскрытия онтогенетических и поведенческих функций генов человека [37]. Для определения нейробиологических функций 132 генов, связанных с шизофренией при помощи Cas9, были созданы 132 мутанта данио, в результате установлены функции многих из них, в том числе определена важная роль фактора транскрипции *zlf536* в развитии нейронов переднего мозга, участвующих в социальном поведении и стрессе [101]. Благодаря использованию CRISPR-опосредованных технологий, также были обнаружены синергетические эффекты распространенных вариантов риска шизофрении [90].

**Перспективы.** Основные трудности применения для терапии когнитивных нарушений в первую очередь связаны с недостатком фундаментальных знаний молекулярных механизмов когнитивных функций, а развитие CRISPR-технологий в ближайшем будущем обещает значительно пополнить эти пробелы. Кроме того, основным препятствием для разработки эффективных методов лечения нейродегенеративных заболеваний является неполное понимание лежащих в их основе клеточных механизмов. Надежды в этой области связаны с успехами в разработках генетических скринингов нейронов, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека [ИПСК] с использованием CRISPR-интерференции/активации. Для выяснения вклада различных генов в выживаемость, дифференцировку, регуляцию транскрипции и морфологию клеток, в 2019 году была разработана платформа интерференции CRISPRi для устойчивого нокаута 2300 эндогенных генов в нейронах, полученных из ИПСК [102]. Проведя CRISPRi-

зависимый скрининг, авторы выявили нейрон-специфические гены и гены, которые улучшали выживаемость нейронов после нокаута, а также гены, которые способствовали долголетию нейронов. С применением этих методов, ученые надеются понять, почему одни типы нейронов в зависимости от нейродегенеративных заболеваний избирательно уязвимы для нейродегенерации, в то время как другие устойчивы [44]. ИПСК в настоящее время широко применяются для восстановления функциональности поврежденной ткани путем замены поврежденных клеток конкурентными, а для также моделирования нейродегенеративных заболеваний с целью разработки новых методов лечения, открытия биомаркеров, разработки и тестирования новых лекарств. Выражаются оптимистичные надежды, что с помощью ИПСК удастся осуществить терапию таких нейродегенеративных заболеваний, как болезни Паркинсона и Альцгеймера [105].

Неполными являются и наши знания о механизмах дифференцировки нервных клеток, и, соответственно, о заболеваниях, связанных с неправильным развитием. На основе метода GESTALT3, в котором использовано CRISPR/Cas9-зависимое редактирование генома для постепенного ввода и накопления мутаций в штрих-коде ДНК в течение нескольких раундов деления клетки, что маркирует клетки-потомки [70], разработан *scGESTALT*. Этот подход при помощи одноклеточных последовательностей РНК (*scRNA-seq*) и штрих-кодов CRISPR-Cas9 позволяет реконструировать клональные отношения между сотнями типов клеток, образующихся во время развития, и может способствовать пониманию молекулярной идентичности и истории происхождения тысяч клеток во время нормального и патологического развития любых организмов [83]. Кроме того, для определения причинной связи между генотипами и фенотипами нейронов разработана стратегия, основанная на лазерной микродиссекции отдельных нейронов, трансфицированных CRISPR/Cas с дальнейшим секвенированием продуктов ПЦР, содержащих геномную область CRISPR/Cas-мишени в единичных эталонных нейронах [96].

В улучшении нуждаются также технологии доставки CRISPR систем в ЦНС *in vivo*. Так внутричерепное введение вирусных векторов, применяемое в настоящее время, захватывает территории не более нескольких кубических миллиметров. Оптимизм вызывают недавно разработанные AAV векторы с модифицированными капсидами, которые могут преодолевать гематоэнцефалический барьер, и, соответственно, могут быть введены системно [14]. Успешно ведутся и работы по улучшению как точности и специфичности нацеливания CRISPR, так и повышению эффективности редактирования генома. Недавно была разработана стратегия CRISPR-chrom, увеличивающая эффективность модификации генома в несколько раз через слияние SpCas9 с хроматин-модулирующими пептидами, полученными из белков

HMGN1 и HMGB1, гистона H1 и комплексов ремоделирования хроматина [23]. Большими перспективами обладает также система CRISPR-FokI dCas9 [fdCas9], в которой каталитический домен эндонуклеазы FokI связан с dCas9 и парой направляющих sgRNA. Димеризация доменов FokI генерирует двухцепочечные разрывы ДНК, что активирует механизм репарации ДНК и приводит к эффективному редактированию генома [87]. Успех стратегий генной инженерии для медицины также будет зависеть от развития безопасных, иммуно-инертных и направленных на определенные типы клеток систем доставки. Надежда здесь связана с невирусными векторами доставки и обнаружением новых ортологов Cas9 из непатогенных видов бактерий [93]. Современные стратегии редактирования генома, их развитие и перспективы применения детально описаны в обзорах [52, 107, 110].

Начались клинические испытания CRISPR/Cas, которые дают первое представление о том, как нацеливание на ДНК и РНК может способствовать лечению многих генетических и эпигенетических заболеваний человека [100]. В настоящее время несколько коммерческих биотехнологических компаний усовершенствуют и внедряют технологии редактирования и модификации генома *in vivo* и разрабатывают методы лечения расстройств ЦНС [64]. Скорость развития в этой области — одна из самых высоких в науке. Предполагается, что следующие 5–10 лет будут важнейшими для понимания того, удастся ли вылечить некоторые трудноизлечимые неврологические заболевания с помощью редактирования генома.

Таким образом, CRISPR/CAS технологии, позволяющие модифицировать практически любой ген, либо изменять его экспрессию адаптированные для использования в ЦНС, а также трансгенные и CRISPR-экспрессирующие животные позволят в ближайшем будущем значительно пополнить наши знания о молекулярно-клеточных механизмах функционирования мозга. Нас могут ожидать открытия как в области молекулярных механизмов формирования долговременной памяти, так и в разработке новых подходов к лечению заболеваний, связанных с когнитивными нарушениями.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа поддержана Программой фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2021 годы (ГП-14, раздел 63).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гринкевич Л.Н. Эпигенетика и формирование долговременной памяти // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2012. Т. 98. № 5. С. 553.
2. Гринкевич Л.Н. Роль микроРНК в обучении и долговременной памяти // Вавиловский журнал ге-

- нетики и селекции // 2020. Т. 24. № 8. С. 885. <https://doi.org/10.18699/VJ20.687>
3. Дюжикова Н.А., Скоморохова Е.Б., Вайдо А.И. Эпигенетические механизмы формирования постстрессорных состояний // Усп. физиол. наук. 2015. Т. 46. № 1. С. 47.
4. Aquino-Jarquin G. Emerging Role of CRISPR/Cas9 Technology for MicroRNAs Editing in Cancer Research // Cancer Res. 2017. V. 77. № 24. P. 6812. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2142>
5. Bäck S., Necarsulmer J., Whitaker L.R. et al. Neuron-specific genome modification in the adult rat brain using CRISPR-Cas9 transgenic rats // Neuron. 2019. V.102. P. 105.
6. Bassuk A.G., Zheng A., Li Y., Tsang S.H., Mahajan V.B. Precision Medicine: Genetic Repair of Retinitis Pigmentosa in Patient-Derived Stem Cells // Sci. Rep. 2016. V. 6. № 19969. <https://doi.org/10.1038/srep19969>
7. Batra R., Nelles D.A., Pirie E. et al. Elimination of Toxic Microsatellite Repeat Expansion RNA by RNA-Targeting Cas9 // Cell. 2017. V. 170. № 5. P. 899. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.010>
8. Behm M., Öhman M. RNA editing: a contributor to neuronal dynamics in the mammalian brain // Trends Genet. 2016. V. 32. P. 165.
9. Bohnsack J., Patel V.K., Morrow A.L. Ethanol Exposure Regulates Gabra1 Expression via Histone Deacetylation at the Promoter in Cultured Cortical Neurons // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2017. V. 363. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1124/jpet.117.242446>
10. Brane A.C., Tollefsbol T.O. Targeting Telomeres and Telomerase: Studies in Aging and Disease Utilizing CRISPR/Cas9 Technology // Cells. 2019. V. 8. № 2. P. 186. <https://doi.org/10.3390/cells8020186>
11. Bruch R., Baaske J., Chatelle C. et al. CRISPR/Cas13a-Powered Electrochemical Microfluidic Biosensor for Nucleic Acid Amplification-Free miRNA Diagnostics // Adv. Mater. 2019. V. 31. № 51. e1905311. <https://doi.org/10.1002/adma.201905311>
12. Bruch R., Johnston M., Kling A. et al. CRISPR-powered electrochemical microfluidic multiplexed biosensor for target amplification-free miRNA diagnostics // Biosens Bioelectron. 2021. V. 177. P. 112887. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112887>
13. Campa C.C., Weisbach N.R., Santinha A.J., Incarnato D., Platt R.J. Multiplexed genome engineering by Cas12a and CRISPR arrays encoded on single transcripts // Nat. Methods 2019. V. 16. P. 887.
14. Chan K.Y., Jang M.J., Yoo B.B. et al. Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems // Nat. Neurosci. 2017. V. 20. P. 1172.
15. Chen C.D., Zeldich E., Li Y., Yuste A., Abraham C.R. Activation of the Anti-Aging and Cognition-Enhancing Gene Klotho by CRISPR dCas9 Transcriptional Effector Complex // J. Mol. Neurosci. 2018. V. 64. № 2. P. 175. <https://doi.org/10.1007/s12031-017-1011-0>
16. Chen L.F., Lin Y.T., Gallegos D.A. et al. Enhancer histone acetylation modulates transcriptional bursting dynamics of neuronal activity-inducible genes // Cell Rep. 2019. V. 26. P. 1174.

17. *Chiu Y.W., Hori Y., Ebinuma I. et al.* Identification of calcium and integrin-binding protein 1 as a novel regulator of production of amyloid beta peptide using CRISPR/Cas9-based screening system // *FASEB J.* 2020. V. 34. № 6. P. 7661. <https://doi.org/10.1096/fj.201902966RR>
18. *Chong C.M., Ke M., Tan Y. et al.* Presenilin 1 deficiency suppresses autophagy in human neural stem cells through reducing  $\gamma$ -secretase-independent ERK/CREB signaling // *Cell Death Dis.* 2018. V. 9. № 9. P. 879. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-0945-7>
19. *Cong L., Ran F.A., Cox D. et al.* Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems // *Science.* 2013. V. 339. № 6121. P. 819. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>
20. *Davis K.M., Pattanayak V., Thompson D.B., Zuris J.A., Liu D.R.* Small molecule-triggered Cas9 protein with improved genome editing specificity // *Nat. Chem. Biol.* 2015. V. 11. P. 316.
21. *Day J.J., Kennedy A.J., Sweatt J.D.* DNA methylation and its implications and accessibility for neuropsychiatric therapeutics // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2015. V. 55. P. 591. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010814-124527>
22. *de Solis C.A., Ho A., Holehonnur R., Ploski J.E.* The development of a viral mediated CRISPR/Cas9 system with doxycycline dependent gRNA expression for inducible in vitro and in vivo genome editing // *Front. Mol. Neurosci.* 2016. 9:70.
23. *Ding X., Seebeck T., Feng Y. et al.* Improving CRISPR-Cas9 Genome Editing Efficiency by Fusion with Chromatin-Modulating Peptides // *CRISPR J.* 2019. V. 2. P. 51. <https://doi.org/10.1089/crispr.2018.0036>
24. *Dow L.E., Fisher J., O'Rourke K.P. et al.* Inducible in vivo genome editing with CRISPR-Cas9 // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. P. 390. <https://doi.org/10.1038/nbt.3155>
25. *Dubal D.B., Yokoyama J.S., Zhu L. et al.* Life extension factor klotho enhances cognition // *Cell Rep.* 2014. V. 7. № 4. P. 1065. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.03.076>
26. *Ehrlich M.* DNA hypermethylation in disease: mechanisms and clinical relevance // *Epigenetics.* 2019. V. 14. №12. P. 1141. <https://doi.org/10.1080/15592294.2019.1638701>
27. *Ekman F.K., Ojala D.S., Adil M.M. et al.* CRISPR-Cas9-mediated genome editing increases lifespan and improves motor deficits in a huntington's disease mouse model // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2019. V. 17. P. 829.
28. *Ellenbroek B., Youn J.* Rodent models in neuroscience research: is it a rat race? // *Dis. Model. Mech.* 2016. V. 9. P. 1079.
29. *Feng J., Zhou Y., Campbell S.L. et al.* Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons // *Nat. Neurosci.* 2010. V. 13. № 4. P. 423. <https://doi.org/10.1038/nn.2514>
30. *Gao Y., Hisey E., Bradshaw T.W.A. et al.* Plug-and-Play Protein Modification Using Homology-Independent Universal Genome Engineering // *Neuron.* 2019. V. 103. № 4. P. 583. doi: V. 13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.05.047>
31. *Garza J.C., Qi X., Gjeluci K. et al.* Disruption of the psychiatric risk gene Ankyrin 3 enhances microtubule dynamics through GSK3/CRMP2 signaling // *Transl. Psychiatry.* 2018. V. 8. № 1. P. 135. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0182-y>
32. *Gilbert L.A., Larson M.H., Morsut L. et al.* Stern-Giannossar N, Brandman O, Whitehead EH, Doudna JA, Lim WA et al. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes // *Cell.* 2013. V. 154. № 2. P. 442. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.044>
33. *Good K.V., Vincent J.B., Ausio J.* MeCP2: The Genetic Driver of Rett Syndrome Epigenetics // *Front. Genet.* 2021. V. 12. P. 620859. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.620859>
34. *Guhathakurta S., Kim J., Adams L. et al.* Targeted attenuation of elevated histone marks at SNCA alleviates alpha-synuclein in Parkinson's disease // *EMBO Mol. Med.* 2021. V. 13. № 2. e12188. <https://doi.org/10.15252/emmm.202012188>
35. *Hilton I.B., D'Ippolito A.M., Vockley C.M. et al.* Epigenome editing by a CRISPR Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. P. 510.
36. *Hirosawa M., Fujita Y., Parr C.J.C. et al.* Cell-type-specific genome editing with a microRNA-responsive CRISPR-Cas9 switch // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 45. № 13. e118. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx309>
37. *Hoffman E.J., Turner K., Fernandez J.M. et al.* Estrogens Suppress a Behavioral Phenotype in Zebrafish Mutants of the Autism Risk Gene, CNTNAP2 // *Neuron.* 2016. V. 89. P. 725.
38. *Hoffmann M.D., Aschenbrenner S., Grosse S. et al.* Cell-specific CRISPR-Cas9 activation by microRNA-dependent expression of anti-CRISPR protein // *Nucleic Acids Res.* 2019. V. 47. № 13. e75. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz271>
39. *Huang T.P., Newby G.A., Liu D.R.* Precision genome editing using cytosine and adenine base editors in mammalian cells // *Nat. Protoc.* 2021. V. 16. № 2. P. 1089. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00450-9>
40. *Incontro S., Asensio C.S., Edwards R.H., Nicoll R.A.* Efficient, complete deletion of synaptic proteins using CRISPR // *Neuron.* 2014. V. 83. № 5. P. 1051. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.043>
41. *Jansen R., Embden J.D., Gastra W., Schouls L.M.* Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes // *Mol. Microbiol.* 2002. V. 43. № 6. P. 1565. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.02839.x>
42. *Jin X., Simmons S.K., Guo A. et al.* In vivo Perturb-Seq reveals neuronal and glial abnormalities associated with autism risk genes // *Science.* 2020. V. 370. №6520: eaaz6063. <https://doi.org/10.1126/science.aaz6063>
43. *Jinek M., Chylinski K., Fonfara I. et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity // *Science.* 2012. V. 337. P. 816.
44. *Kampmann M.* A CRISPR Approach to Neurodegenerative Diseases // *Trends Mol. med.* 2017. V. 23. P. 483. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.04.003>
45. *Kantor B., Tagliafierro L., Gu J. et al.* Downregulation of SNCA Expression by Targeted Editing of DNA Methylation: A Potential Strategy for Precision Therapy in PD // *Mol. Ther.* 2018. V. 26. № 11. P. 2638. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.08.019>
46. *Kim H., Ham S., Jo M. et al.* CRISPR-Cas9 Mediated Telomere Removal Leads to Mitochondrial Stress and Pro-

- tein Aggregation // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. P. 2093. <https://doi.org/10.3390/ijms18102093>
47. Kim S., Kaang B.K. Epigenetic regulation and chromatin remodeling in learning and memory // *Exp. Mol. Med.* 2017. V. 49. № 1:e281. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.140>
  48. Konermann S., Brigham M.D., Trevino A.E. et al. Optical control of mammalian endogenous transcription and epigenetic states // *Nature*. 2013. V. 500. № 7463. P. 472–476.
  49. Konermann S., Lotfy P., Brideau N.J. et al. Transcriptome Engineering with RNA-Targeting Type VI-D CRISPR Effectors // *Cell*. 2018. V. 173. № 3. P. 665. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.033>
  50. Kumar N., Stanford W., de Solis C. et al. The development of an AAV-based CRISPR SaCas9 genome editing system that can be delivered to neurons in vivo and regulated via doxycycline and Cre-recombinase // *Front. Mol. Neurosci.* 2018. V. 11. P.413.
  51. Kuscu C., Mammadov R., Czikora A. et al. Temporal and Spatial Epigenome Editing Allows Precise Gene Regulation in Mammalian Cells // *J. Mol. Biol.* 2019. V. 431. № 1. P. 111. doi: 48 <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.08.001>
  52. Lau C.H., Tin C., Suh Y. CRISPR-based strategies for targeted transgene knock-in and gene correction // *Fac. Rev.* 2020. V. 9. P. 20. <https://doi.org/10.12703/r/9-20>
  53. Lee B., Lee K., Panda S. et al. Nanoparticle delivery of CRISPR into the brain rescues a mouse model of fragile X syndrome from exaggerated repetitive behaviors // *Nat. Biomed. Eng.* 2018. V. 2. P. 497.
  54. Lei Y., Zhang X., Su J. et al. Targeted DNA methylation in vivo using an engineered dCas9-MQ1 fusion protein // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. P.16026.
  55. Liang P., Xu Y., Zhang X. et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes // *Protein Cell*. 2015. V. 6. № 5. P. 363. <https://doi.org/10.1007/s13238-015-0153-5>
  56. Lin Y.T., Seo J., Gao F. et al. APOE4 Causes Widespread Molecular and Cellular Alterations Associated with Alzheimer's Disease Phenotypes in Human iPSC-Derived Brain Cell Types // *Neuron*. 2018. V. 98. № 6. P. 1141. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.008>
  57. Liu E.Y., Cali C.P., Lee E.B. RNA metabolism in neurodegenerative disease // *Dis. Model. Mech.* 2017. V. 10. № 5. P. 509. doi.org/ <https://doi.org/10.1242/dmm.028613>
  58. Liu K.I., Ramli M.N., Woo C.W. et al. A chemical-inducible CRISPR-Cas9 system for rapid control of genome editing // *Nat. Chem. Biol.* 2016. V. 12. № 11. P. 980. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2179>
  59. Liu K.I., Ramli M.N.B., Sutrisnoh N.B., Tan M.H. Rapid Control of Genome Editing in Human Cells by Chemical-Inducible CRISPR-Cas Systems // *Methods Mol. Biol.* 2018. V. 1772. P. 267. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7795-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7795-6_15)
  60. Liu Q., He D., Xie L. Prediction of off-target specificity and cell-specific fitness of CRISPR-Cas System using attention boosted deep learning and network-based gene feature // *PLoS Comput. Biol.* 2019. V. 15. № 10. e1007480. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007480>
  61. Liu X.S., Jaenisch R. Editing the Epigenome to Tackle Brain Disorders // *Trends Neurosci.* 2019. V. 42. № 12. P. 861. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.10.003>
  62. Liu X.S., Wu H., Ji X. et al. Editing DNA Methylation in the Mammalian Genome // *Cell*. 2016. V. 167. № 1. P. 233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.056>
  63. Liu X.S., Wu H., Krzisch M. et al. Rescue of fragile X syndrome neurons by DNA methylation editing of the FMR1 gene // *Cell*. 2018. V. 172. № 5. P. 979. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.012>
  64. Lubroth P., Colasante G., Lignani G. In vivo Genome Editing Therapeutic Approaches for Neurological Disorders: Where Are We in the Translational Pipeline? // *Front. Neurosci.* 2021. V. 15. № 632522. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.632522>
  65. Ma Y., Zhang L., Huang X. Building Cre Knockin Rat Lines Using CRISPR/Cas9 // *Methods Mol. Biol.* 2017. V. 1642. P. 37. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7169-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7169-5_3)
  66. Malakhova A.A., Grigor'eva E.V., Malankhanova T.B. et al. Generation of induced pluripotent stem cell line ICGi018-A from peripheral blood mononuclear cells of a patient with Huntington's disease // *Stem. Cell Res.* 2020. V. 44:101743. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2020.101743>
  67. Mali P., Yang L., Esvelt K.M. et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9 // *Science*. 2013. V. 339. P. 823.
  68. Masso A., Sanchez A., Bosch A., Gimenez-Llort L., Chillón M. Secreted alphaKlotho isoform protects against age-dependent memory deficits // *Mol. Psychiatry*. 2018. V. 23. № 9. P. 1937. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.211>
  69. McGraw C.M., Samaco R.C., Zoghbi H.Y. Adult neural function requires MeCP2 // *Science*. 2011. V. 333. № 6039. P. 186. <https://doi.org/10.1126/science.1206593>
  70. McKenna A., Findlay G.M., Gagnon J.A. et al. Whole-organism lineage tracing by combinatorial and cumulative genome editing // *Science*. 2016. V. 353. № 6298:aaf7907. <https://doi.org/10.1126/science.aaf7907>
  71. Mikuni T., Nishiyama J., Sun Y., Kamasawa N., Yasuda R. High-throughput, high-resolution mapping of protein localization in mammalian brain by in vivo genome editing // *Cell*. 2016. V. 165. № 7. P. 1803. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.044>
  72. Mojica F.J., Díez-Villaseñor C., García-Martínez J., Soria E.J. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements // *Mol. Evol.* 2005. V. 60. № 2. P. 174. <https://doi.org/10.1007/s00239-004-0046-3>
  73. Mojica F.J.M., Díez-Villaseñor C., García-Martínez J., Almendros C. Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system // *Microbiology (Reading)*. 2009. V. 155 (Pt 3). P. 733. <https://doi.org/10.1099/mic.0.023960-0>
  74. Moretti P., Levenson J.M., Battaglia F. et al. Learning and memory and synaptic plasticity are impaired in a mouse model of Rett syndrome // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. № 1. P. 319. doi: 05.2006 <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2623>
  75. Moses C., Hodgetts S.I., Nugent F. et al. Transcriptional repression of PTEN in neural cells using CRISPR/dCas9 epigenetic editing // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 11393. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68257-y>

76. *Nishiyama J., Mikuni T., Yasuda R.* Virus-Mediated Genome Editing via Homology-Directed Repair in Mitotic and Postmitotic Cells in Mammalian Brain // *Neuron*. 2017. V. 96. № 4. P. 755. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.004>
77. *Park H., Oh J., Shim G. et al.* In vivo neuronal gene editing via CRISPR-Cas9 amphiphilic nanocomplexes alleviates deficits in mouse models of Alzheimer's disease // *Nat. Neurosci.* 2019. V. 22. P. 524.
78. *Persico A.M., Napolioni V.* Autism genetics // *Behav. Brain Res.* 2013. V. 25. P. 95.
79. *Pluvinage J.V., Haney M.S., Smith B.A.H. et al.* CD22 blockade restores homeostatic microglial phagocytosis in ageing brains // *Nature*. 2019. V. 568. № 7751. P. 187. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1088-4>
80. *Port F., Starostecka M., Boutros M.* Multiplexed conditional genome editing with Cas12a in *Drosophila*. Multiplexed conditional genome editing with Cas12a in *Drosophila* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2020. V. 117. № 37. P. 22890. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004655117>
81. *Qi L.S., Larson M.H., Gilbert L.A. et al.* Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression // *Cell*. 2013. V. 152. P. 1173.
82. *Qiu P.Y., Jiang J., Liu Z. et al.* BMAL1 knockout macaque monkeys display reduced sleep and psychiatric disorders // *Natl. Sci. Rev.* 2019. V. 6. № 1. P. 87. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwz002>
83. *Raj B., Wagner D.E., McKenna A. et al.* Simultaneous single-cell profiling of lineages and cell types in the vertebrate brain // *Nat. Biotechnol.* 2018. V. № 36. P. 442.
84. *Rees H.A., Liu D.R.* Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells // *Nat. Rev. Genet.* 2018. V. 19. P. 770.
85. *Remy S., Chenouard V., Tesson L. et al.* Generation of gene-edited rats by delivery of CRISPR/Cas9 protein and donor DNA into intact zygotes using electroporation // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. P. 16554. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16328-y>
86. *Rousseau B.A., Hou Z., Gramelpacher M.J., Zhang Y.* Programmable RNA Cleavage and Recognition by a Natural CRISPR-Cas9 System from *Neisseria meningitidis* // *Mol. Cell*. 2018. V. 69. № 5. P. 906. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.01.025>
87. *Sajfaldeen M., Al-Ansari D.E., Ramotar D., Aouida M.* CRISPR FokI Dead Cas9 System: Principles and Applications in Genome Engineering // *Cells*. 2020. V. 9. № 11. P. 2518. <https://doi.org/10.3390/cells9112518>
88. *Sandoval A. Jr., Elahi H., Ploski J.E.* Genetically Engineering the Nervous System with CRISPR-Cas // *eNeuro*. 2020. V. 7. № 2. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0419-19.2020>
89. *Savell K.E., Bach S.V., Zipperly M.E. et al.* A Neuron-Optimized CRISPR/dCas9 Activation System for Robust and Specific Gene Regulation // *eNeuro*. 2019. V. 6. № 1. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0495-18.2019>
90. *Schrode N., Ho S.M., Yamamuro K. et al.* Synergistic effects of common schizophrenia risk variants // *Nat. Genet.* 2019. V. 51. № 10. P. 1475.
91. *Schwank G., Koo Bon-Kyoung, Sasselli V. et al.* Functional repair of CFTR by CRISPR/Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients // *Cell Stem. Cell*. 2013. V. 13. № 6. P. 653. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.11.002>
92. *Sgro A., Blancafort P.* Epigenome engineering new technologies for precision medicine // *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. № 22. P. 12453. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1000>
93. *Shalaby K., Aouida M., El-Agnaf O.* Tissue-Specific Delivery of CRISPR Therapeutics: Strategies and Mechanisms of Non-Viral Vectors // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 19. P. 7353. <https://doi.org/10.3390/ijms21197353>
94. *Sinnamon J.R., Kim S.Y., Fisk J.R. et al.* In Vivo Repair of a Protein Underlying a Neurological Disorder by Programmable RNA Editing // *Cell Rep.* 2020. V. 32. № 2. 107878. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107878>
95. *Staahl B.T., Benekareddy M., Coulon-Bainier C. et al.* Efficient genome editing in the mouse brain by local delivery of engineered Cas9 ribonucleoprotein complexes // *Nat. Biotechnol.* 2017. V. 35. P. 431.
96. *Steinecke A., Kurabayashi N., Hayano Y., Ishino Y., Taniguchi H.* In Vivo Single-Cell Genotyping of Mouse Cortical Neurons Transfected with CRISPR/Cas9 // *Cell Rep.* 2019. V. 28. № 2. P. 325. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.06.038>
97. *Sun W., Ji W., Hall J. M. et al.* Self-assembled DNA nanoclews for the efficient delivery of CRISPR-Cas9 for genome editing // *Angew Chem. Int. Ed Engl.* 2015. V. 54. № 41. P. 12029. <https://doi.org/10.1002/anie.201506030>
98. *Swartjes T., Staats R.H.J., van der Oost J.* Editor's cut: DNA cleavage by CRISPR RNA-guided nucleases Cas9 and Cas12a // *Biochem. Soc. Trans.* 2020. V. 48. № 1. P. 207. <https://doi.org/10.1042/BST20190563>
99. *Swiech L., Heidenreich M., Banerjee A. et al.* In vivo interrogation of gene function in the mammalian brain using CRISPR-Cas9 // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 1. P. 102. <https://doi.org/10.1038/nbt.3055>
100. *Tay L.S., Palmer N., Panwala R., Chew W.L., Mali P.* Translating CRISPR-Cas Therapeutics: Approaches and Challenges // *CRISPR J.* 2020. V. 4. P. 253. <https://doi.org/10.1089/crispr.2020.0025>
101. *Thyme S.B., Pieper L.M., Li E.H. et al.* Phenotypic landscape of schizophrenia-associated genes defines candidates and their shared functions // *Cell*. 2019. V. 177. P. 478.
102. *Tian R., Gachechiladze M.A., Ludwig C.H. et al.* CRISPR Interference-Based Platform for Multimodal Genetic Screens in Human iPSC-Derived Neurons // *Neuron*. 2019. V. 104. № 2. P. 239. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.07.014>
103. *Tsuchiya Y., Minami Y., Umemura Y. et al.* Disruption of MeCP2 attenuates circadian rhythm in CRISPR/Cas9-based Rett syndrome model mouse // *Genes Cells*. 2015. V. 20. № 12. P. 992. <https://doi.org/10.1111/gtc.12305>
104. *Uezu A., Kanak D.J., Bradshaw T.W. et al.* Identification of an elaborate complex mediating postsynaptic inhibition // *Science*. 2016. V. 353. № 6304. P. 1123. <https://doi.org/10.1126/science.aag0821>
105. *Valadez-Barba V., Cota-Coronado A., Hernández-Pérez O.R. et al.* iPSC for modeling neurodegenerative disorders // *Regen. Ther.* 2020. V. 15. P. 332. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2020.11.006>
106. *Vermilyea S.C., Babinski A., Tran N., et al.* In Vitro CRISPR/Cas9-Directed Gene Editing to Model LR-RK2 G2019S Parkinson's Disease in Common Mar-

- mosets // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 3447. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60273-2>
107. Wang D., Zhang F., Gao G. CRISPR-Based Therapeutic Genome Editing: Strategies and In Vivo Delivery by AAV Vectors // *Cell.* 2020. V. 181. № 1. P. 136. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.023>
  108. Willems J., de Jong A.P.H., Scheefhals N. et al. ORANGE: A CRISPR/Cas9-based genome editing toolbox for epitope tagging of endogenous proteins in neurons // *PLoS Biol.* 2020. V. 18. № 4. e3000665. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000665>
  109. Wolf E.J., Chen C.D., Zhao X., et al. Klotho, PTSD, and advanced epigenetic age in cortical tissue // *Neuropsychopharmacology.* 2021. V. 46. № 4. P. 721. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00884-5>
  110. Wu Q., Shou J. Toward precise CRISPR DNA fragment editing and predictable 3D genome engineering // *J Mol. Cell Biol.* 2021. V. 12. № 11. P. 828. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjaa060>
  111. Wu Y.Y., Kuo H.C. Functional roles and networks of non-coding RNAs in the pathogenesis of neurodegenerative diseases // *J. Biomed. Sci.* 2020. V. 27. № 1. 49. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00636-z>
  112. Xu M., Song P., Huang W. et al. Disruption of AT-hook 1 domain in MeCP2 protein caused behavioral abnormality in mice // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2018. V. 1864. № 2. P. 347. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.10.022>
  113. Xu Y., Sun Z. Molecular basis of Klotho: from gene to function in aging // *Endocr. Rev.* 2015. V. 36. № 2. P. 174. <https://doi.org/10.1210/er.2013-1079>
  114. Yang S., Chang R., Yang H. et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing ameliorates neurotoxicity in mouse model of Huntington's disease // *J. Clin. Invest.* 2017. V. 127. P. 2719.
  115. Yao X., Wang X., Hu X. et al. Homology-mediated end joining-based targeted integration using CRISPR/Cas9 // *Cell Res.* 2017. V. 27. №6. P. 801.
  116. Yeo N.C., Chavez A., Lance-Byrne A. et al. An enhanced CRISPR repressor for targeted mammalian gene regulation // *Nat. Methods.* 2018. V. 15. P. 611.
  117. Yim Y.Y., Teague C.D., Nestler E.J. In vivo locus-specific editing of the neuroepigenome // *Nat. Rev. Neurosci.* 2020. V. 21. № 9. P. 471. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0334-y>
  118. Zeng C.Y., Yang T.T., Zhou H.J. et al. Lentiviral vector-mediated overexpression of Klotho in the brain improves Alzheimer's disease-like pathology and cognitive deficits in mice // *Neurobiol. Aging.* 2019. V. 78. P. 18. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.02.003>
  119. Zhao J., Li B., Ma J., Jin W., Ma X. Photoactivatable RNA N[6]-Methyladenosine Editing with CRISPR-Cas13 // *Small.* 2020. V. 30. e1907301. <https://doi.org/10.1002/smll.201907301>
  120. Zheng Y., Shen W., Zhang J. et al. CRISPR interference based specific and efficient gene inactivation in the brain // *Nat. Neurosci.* 2018. V. 21. P. 447.
  121. Zhou H., Liu J., Zhou C. et al. In vivo simultaneous transcriptional activation of multiple genes in the brain using CRISPR-dCas9-activator transgenic mice // *Nat. Neurosci.* 2018. 21:440–446
  122. Zhou H., Su J., Hu X. et al. Glia-to-Neuron Conversion by CRISPR-CasRx Alleviates Symptoms of Neurological Disease in Mice // *Cell.* 2020. V. 181. № 3. P. 590. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.024>
  123. Zhou X.X., Zou X., Chung H.K. et al. A single-chain photoswitchable CRISPR-Cas9 architecture for light-inducible gene editing and transcription // *ACS Chem. Biol.* 2018. V. 13. P. 443.
  124. Zuo E., Cai Y.J., Li K. et al. One-step generation of complete gene knockout mice and monkeys by CRISPR/Cas9-mediated gene editing with multiple sgRNAs // *Cell Res.* 2017. V. 27. №7. P. 933. <https://doi.org/10.1038/cr.2017.81>

## Genome Editing and Regulation of Gene Expression Using CRISPR/Cas Technologies in Neurobiology

L. N. Grinkevich\*

*Federal State Budgetary Institution of Science Pavlova Institute of Physiology RAS,  
St. Petersburg, 199034 Russia*

\*e-mail: Larisa\_Gr\_SPB@mail.ru

**Abstract**—CRISPR/Cas is a revolutionary technology for targeted editing of the genome and epigenome, which allows to turn on/off and modify almost any gene. These technologies have significant potential for basic research, including the field of cognitive sciences, and for the treatment of cognitive disorders. CRISPR/Cas technology allows quite easily and at a low cost to modify genes of humans, animals, plants, microorganisms and to modulate gene expression. This review is devoted to the use of CRISPR/Cas for the molecular mechanisms studies of the healthy and diseased central nervous system (CNS). The main difficulties of using CRISPR/Cas for genome editing in the CNS are associated with the CNS complexity, inability of neurons to divide, and due to the blood-brain barrier existence. To study the functions of the genes in the CNS, it is often necessary to edit several genes simultaneously, and the different brain compartments or different cell types. The review covers recent achievements related to the adaptation of CRISPR/Cas technologies for genetic modifications and regulation of gene expression in neurons *in vitro* and *in vivo*. The last section of the review will focus on the potential of these technologies to correct cognitive dysfunctions in animal models and the potential therapeutic approaches for treatment of human diseases associated with cognitive impairment.

**Keywords:** CRISPR/Cas, genome editing, epigenetics, long-term memory, cognitive impairment

УДК 612.8

## ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

© 2021 г. Н. Б. Серебряная<sup>1</sup>, \*, Е. Е. Фомичева<sup>1</sup>, П. П. Якуцени<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины Минобрнауки РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГАОУ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого Минобрнауки РФ,  
Санкт-Петербург, Россия

\*e-mail: nbvta@mail.ru

Поступила в редакцию 11.01.2021 г.

После доработки 13.01.2021 г.

Принята к публикации 20.01.2021 г.

Пуринергическая система определяется как универсальная регуляторная система, позволяющая калибровать и синхронизировать индивидуальные клеточные ответы, чтобы они соответствовали интересам целого организма. Важнейшие пуриновые медиаторы АТФ и аденозин обеспечивают позитивную и негативную модуляцию сигналов в центральной и периферической нервной системе, иммунной системе и других системах организма. Синтез и высвобождение этих медиаторов, скорость их ферментативного метаболизма, экспрессия пуринергических рецепторов существенно влияют на течение нормальных физиологических и патологических процессов, в том числе и посттравматических. В обзоре рассмотрены основные компоненты пуринергической системы, влияющие на развитие нейровоспаления после черепно-мозговой травмы и возможности корректирующих воздействий.

**Ключевые слова:** черепно-мозговая травма, нейровоспаление, АТФ, аденозин, пуринергическая система

**DOI:** 10.31857/S0301179821030073

### ВВЕДЕНИЕ

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) — разнообразная группа травматических повреждений, которая представляет серьезную социальную проблему, актуальную для людей разного возраста и социального статуса [133]. ЧМТ возникает в результате физического воздействия, которое нередко приводит к потере сознания и далее к развитию осложнений и заболеваний, различных по тяжести, патогенезу и клиническому исходу.

Прямые первичные повреждения нервной ткани могут вызвать фокальное внутричерепное кровоизлияние, эпидуральные и субдуральные гематомы, субарахноидальные и внутрижелудочковые кровоизлияния, очаговые ушибы и отек мозга (рис. 1) [96]. При гистологических исследованиях отмечают гибель клеток в мозговых оболочках и паренхиме мозга, в венозных синусах, растяжение и разрыв аксонов, диффузное повре-

ждение подкорковых нейронов и разрывы на стыках между белым и серым веществом [130]. В случае легкого повреждения ЧМТ может завершаться благоприятно, а при тяжелом течении может стать как причиной смерти, в том числе от внутрибольничных инфекций [89], так и последующей хронической патологии, включая хроническую травматическую энцефалопатию, эпилепсию, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и ряда других заболеваний [44, 106]. Считается, что связанный с ЧМТ неврологический дефицит является долгосрочным почти у 50% людей, перенесших даже легкую ЧМТ [122]. Первичное повреждение определяет развитие клеточных и молекулярных каскадов, ведущих к развитию вторичного воспаления и дополнительной гибели клеток.

Вторичное воспаление в случае его гиперактивного, несбалансированного течения препятствует восстановлению поврежденной ткани, под-

**Сокращения:** АДФ — аденозиндифосфат; АТФ — аденозинтрифосфат; УДФ — уридиндифосфат; УТФ — уридинтрифосфат; ГЭБ — гематоэнцефалический барьер; ADA — аденозиндезаминаза; АК — аденозинкиназа; DAMP — молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением; E-NPP — экто-нуклеотидпирофосфатазы/фосфолиэстеразы; E-NTPD — экто-нуклеотидаза 5-трифосфат дифосфогидролаза; FGF — фактор роста фибробластов; IL — интерлейкин; NGF — фактор роста нервов; NT — нейротропин; TGF — трансформирующий фактор роста; TLR — Toll-подобный рецептор; TNF — фактор некроза опухолей.



Рис. 1. Основные черты первичного и вторичного повреждения мозга при ЧМТ.

держивает нарушение физиологических функций и, в конечном счете, определяет степень нейродегенерации, ведущей к развитию неврологических заболеваний и поведенческих нарушений [1, 170]. Развитие и поддержание вторичного воспаления связывают с такими патогенными факторами, как эксайтотоксичность, вызванная избытком нейромедиатора глутамата и АТФ [59], образование свободных радикалов, вызывающее повреждение белков и фосфолипидных мембран нервных клеток [8], и воспалительный ответ, связанный как с местной, так и системной иммунной активацией [153]. Считается, что первичная гибель клеток после ЧМТ неизбежна, но вторичное повреждение поддается терапевтическому вмешательству путем воздействия на перечисленные процессы. Однако достаточно эффективные терапевтические подходы, способные минимизировать последствия полученных повреждений, пока не реализованы [54]. Сложность лечения ЧМТ связана с неоднородностью задействованных патогенетических процессов, их комбинаций и наложениями.

### РАЗВИТИЕ ТКАНЕВОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ЧМТ

Нейровоспаление является ключевой реакцией ЦНС на травму [142]. Резидентные в ЦНС и периферические иммунные клетки (микроглия, тучные клетки, астроциты, моноциты и макрофаги, нейтрофилы, Т-лимфоциты) быстро реагируют на ЧМТ и участвуют в процессе развивающегося воспаления и последующего восстановления [49]. Ранним событием при нейротравме является активи-

зация тучных клеток менингеальной оболочки, которая приводит к нарушению гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [14, 103]. Признаки дисфункции ГЭБ определялась уже через 3 минуты после сотрясения мозга [55]. В местах сосудистого повреждения активируются система комплемента, тромбоциты и нейтрофилы, которые затем проникают к мозговым оболочкам и в периваскулярные пространства. При этом формируются микротромбы, усиливаются гемоциркуляторные нарушения [43, 97], что ведет к гипоперфузии и отеку головного мозга [66, 138].

Поврежденные клетки, в свою очередь, высвобождают различные молекулы, обладающие характеристиками сигналов опасности – аларминов или DAMP – среди которых белки теплового шока, белок 1 группы высокой подвижности (HMGB1), белки S-100, аденозинтрифосфат (АТФ), микрокристаллы мочевой кислоты, ДНК или РНК, интерлейкин (IL) 1α и другие молекулы [27, 144]. При распознавании DAMP активируются резидентные миелоидные клетки врожденного иммунитета ЦНС – микроглия. Распознавание через Toll-подобные рецепторы (TLR) и нуклеотидсвязывающие рецепторы, подобные домену олигомеризации (NLR) и запускает стерильную иммунную реакцию, предназначенную для восстановления гомеостаза тканей [3, 111]. На клетках микроглии присутствуют различные TLR (TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR8, TLR9) и корецептор CD14 [29], причем их экспрессия при воспалении увеличивается [137]. Наиболее высокая экспрессия TLR наблюдается в областях мозга, прилегающих к мозговым оболочкам и околожелудочковым органам [2, 39]. Интересно, что в

условиях церебральной ишемии активация микроглии через TLR3 (лигандами которого определены двуцепочечная РНК и полиинозин-полицитидиловая кислота) способствует выживанию нейронов [98], а стимуляция микроглии агонистом TLR4, например, эндотоксином, блокирует пролиферацию предшественников олигодендроцитов и стимулирует их апоптоз из-за высвобождения большого количества TNF $\alpha$ , препятствуя процессу ремиелинизации [114].

Регулятором нейровоспалительного ответа, возникающего после ЧМТ, также является микроглия [57]. К факторам микроглиального происхождения относят провоспалительные цитокины, включая TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN $\gamma$  и хемокины (CCL2/MCP-1, хемоаттрактантный белок-1 моноцитов и CCL3/MIP1- $\alpha$ , воспалительный белок макрофагов 1-альфа), действующие как хемоаттрактанты для макрофагов и моноцитов [111, 149]. Опасность избыточного воспалительного ответа в ЦНС связана с тем, что повышенные концентрации TNF $\alpha$ , IL-6 и оксида азота (NO) вызывают повреждение нейронов [3]. Однако активированная микроглия высвобождает также нейротрофические факторы, включая фактор роста нервов (NGF), нейротрофины (NT)-4/5, трансформирующий фактор роста  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), нейротрофический фактор глиального происхождения (GDNF), фактор роста фибробластов 2 (FGF2), IL-10 и IL-3, которые также поддерживают выживание нейронов [131]. В итоге, суммарную провоспалительную секреторную функцию микроглии определяет тяжесть повреждения и наличие/выраженность различных сигналов (хемокинов, АТФ и т.д.).

### ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ СИСТЕМА

В начале 1960 года Джеффри Бернсток начал исследования ДНК как нейромедиаторной молекулы и к 1972 г. он создал концепцию пуринергической иннервации [32], показав, что АТФ действует как медиатор. В центральной нервной системе АТФ, высвобождаемый из синаптических окончаний, вызывает быстрые возбуждающие постсинаптические токи, а в периферической нервной системе АТФ был определен как участник передачи сигналов в сенсорных и вегетативных ганглиях. Метаболизация АТФ приводит к формированию аденозина, который оказывает ингибирующую тоническую модуляцию при синаптической передаче сигналов в ЦНС [36].

Теория Бернстока не была сразу принята научным сообществом, которое было настроено воспринимать АТФ только как переносчик химической энергии между макромолекулами, что показал Фриц Липман в 1941 г. [115]. Однако с годами труды Джеффри Бернсток и его многочисленных коллег и учеников по всему миру доказали, что

АТФ и его метаболит аденозин являются важными внеклеточными сигнальными молекулами, задействованными в регуляции множества процессов. Первоначально были определены краткосрочные эффекты пуринергической активации, такие как нейротрансмиссия, нейромодуляция, секреция, хемоаттракция и индукция острого воспаления. Позднее были выявлены и долгосрочные эффекты АТФ, его способность контролировать пролиферацию клеток, их дифференцировку, подвижность, гибель в процессе развития, регенерацию, заживление ран, развитие опухолей и при клеточном старении [32]. И АТФ, и аденозин были определены как особенно важные сигнальные молекулы при патологических состояниях, например, при ишемии, когда их внеклеточная концентрация резко возрастает [140].

В последние годы совокупную систему пуринергической регуляции обозначают как “пурином” [60]. Пурином считается универсальной системой, позволяющей так калибровать и синхронизировать индивидуальные клеточные ответы, чтобы они соответствовали интересам целого организма. Передача пуринергических сигналов обеспечивается следующими основными элементами:

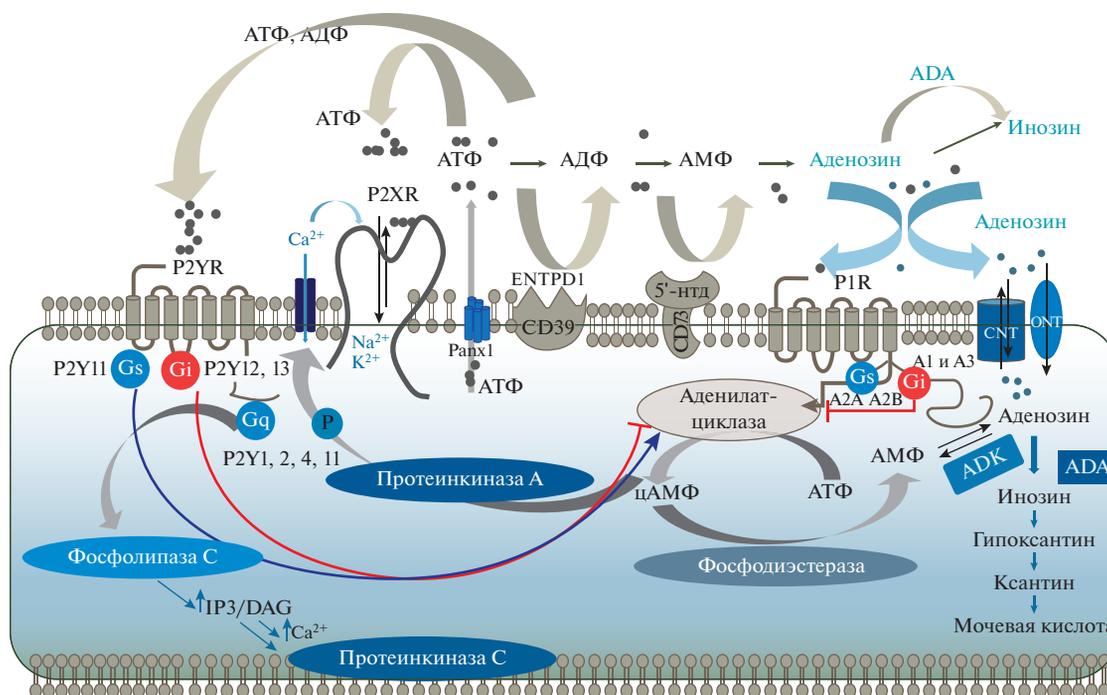
(i) высвобождением АТФ (и ГТФ) в перикеллюлярное пространство;

(ii) пуринергическими рецепторами (P2), которые распознают высвобожденный АТФ/ГТФ и его метаболиты и проводят сигналы внутрь клеток, регулируя их функции;

(iii) прекращением передачи пуринергических сигналов, что осуществляется путем быстрого ферментативного расщепления АТФ до аденозина;

(iv) в свою очередь, аденозин осуществляет регуляторную функцию, связываясь с пуринергическими рецепторами (P1), в тех случаях, когда внеклеточная концентрация аденозина начинает превышать внутриклеточную, он захватывается и направляются внутрь клетки белками-транспортерами.

В физиологических условиях АТФ присутствует в основном внутри клетки и высвобождается во внеклеточное пространство в низких (микромольных) концентрациях [33], создавая “пуринергический ореол” в их ближайшем окружении [164]. Такой “ореол” АТФ представляет собой сигнал низкой интенсивности, адресованный соседним клеткам, и отражает состояние клеток, испускающих АТФ [164]. Интактные клетки могут высвобождать АТФ при экзоцитозе везикул или через проницаемые для АТФ мембранные каналы, такие как коннексиновые полуканалы, паннексиновые каналы, модулятор гомеостаза кальция 1, магнианионные каналы и анионные каналы с регулируемым объемом (рис. 2) [113, 162]. В состоя-



**Рис. 2.** Основные компоненты пуринергической системы. Молекулы АТФ высвобождаются из клетки через паннексиновые (Panx1) и другие типы каналов, связываются с P2-рецепторами как на клетке, из которой они вышли, так и на соседних клетках. Пуриновые рецепторы для нуклеотидов P2R определяют как ионотропные P2XR (P2X1–7) и метаболитропные P2Y (P2YR1,2,4,6,11–14). Нуклеотиды подвергаются гидролизу мембранными и растворимыми эктонуклеотидазами (ENTPD1, CD39) и экто-5'-нуклеотидазой (5'-нтд, CD73), проходя путь от АТФ, АДФ и АМФ до аденозина, который, в свою очередь, активирует пуриновые рецепторы первого типа (P1R). Лигандом всех P2XR на микроглии является АТФ, а для P2YR – лигандами могут быть АТФ (P2Y2 и P2Y11), АДФ (P2Y1). Активация рецепторов P2X приводит к поступлению в клетку ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup>, а в случае рецептора P2X7, при действии высоких концентрация АТФ формируется большая пора, проницаемая для крупных молекул. Активация рецепторов P2YR по-разному действуют на аденилатциклазу: рецептор P2Y11 стимулирует этот фермент, а рецепторы P2Y12,13 – ингибируют. Аденилатциклазы, связанные с плазматической мембраной, синтезируют цАМФ, который является аллостерическим эффектором протеинкиназы А и ионных каналов. Активация рецепторов P2Y1,2,4,6 и P2Y11, связанных с альфа-субъединицей G-белка (Gq), приводит к стимуляции фосфолипазы С, которая инициирует выработку инозитолтрифосфата (IP3) и диацилглицерола (DAG) и высвобождение кальция из клеточных депо и последующей активацией протеинкиназы С. Аденозин может действовать на четыре типа P1-рецепторов (A1, A2A, A2B и A3), которые объединены с G-белками, как ингибирующими (Gi), так и стимулирующими (Gs) аденилатциклазу. Способность подавлять активность аденилатциклазы определена для рецепторов A1 и A3, тогда как A2A и A2B стимулируют этот фермент. Действие аденозина прекращается после его ферментативной деградации аденозиндезаминазой (ADA) до инозина или трансформацией аденозинкиназой (ADK) в АМФ. Перераспределение аденозина и других нуклеозидов между клетками и внеклеточной средой осуществляется специфическими белками, транспортерами нуклеозидов, которые облегчают их перемещение через плазматические мембраны и мембраны некоторых органелл. Эти белки-переносчики определяют как “концентрирующие транспортеры нуклеозидов” (CNT) или как “уравновешивающие транспортеры нуклеозидов” (ENT).

нии покоя или в физиологических условиях клетки выделяют низкие уровни АТФ.

При клеточном стрессе и/или повреждении происходит быстрое пассивное (связанное с повреждением мембраны) высвобождением АТФ во внеклеточную среду, и АТФ достигает высоких (миллимолярных) концентраций, которые запускают воспаление [33], в том числе и активацию микроглии [4].

После выхода во внеклеточное пространство нуклеотиды, включая АТФ и АДФ связываются со специфическими P2 рецепторами, которые подразделяются на ионотропные P2XR (P2X1–7)

и метаболитропные P2Y (P2YR1, 2, 4, 6, 11–14) [9]. Значительно слабее с некоторыми P2YR могут взаимодействовать и пиримидины УТФ, УДФ и УДФ-глюкоза. P2XR имеют тримерную топологию с двумя трансмембранными доменами и управляют в первую очередь потоками Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> и иногда Cl<sup>-</sup> [139]. Активация рецепторов P2Y1,2,4,6 и P2Y11, связанных с альфа-субъединицей G-белка (Gq), приводит к стимуляции фосфолипазы С, которая инициирует выработку инозитолтрифосфата и диацилглицерола [72]. Инозитолтрифосфат увеличивает внутриклеточные уровни Ca<sup>2+</sup>, а диацилглицерол стимулирует протеинкиназу С. Кроме того, рецепторы

P2Y по-разному действуют на аденилатциклазу: рецептор P2Y<sub>11</sub> ее стимулирует, а рецепторы P2Y<sub>12,13</sub> – ингибируют [72].

Пуринергические рецепторы сильно различаются по кинетике десенсibilизации и сродству к индивидуальным лигандам. Внеклеточные концентрации лигандов зависят от активности эктоферментов, как экспрессируемых на поверхности клетки, так и растворимых [174]. На поверхности клеток различных типов имеются три семейства ферментов, гидролизующих АТФ: экто-нуклеотидпирофосфатазы/фосфодиэстеразы (E-NPP), щелочные фосфатазы (AP) и экто-нуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы (E-NTPD). Дальнейшая метаболизация осуществляется экто-5'-нуклеотидазой, которая отщепляет фосфатную группу от АМФ с образованием аденозина, и аденилаткиназой (AK), которая катализирует обратимую реакцию между АМФ и АТФ с образованием двух молекул АДФ [174].

Ось эктоферментов на клеточной поверхности, состоящая из фосфатазы ENTPD1 и экто-5'-нуклеотидазы (CD39–CD73), является основным механизмом деградации внеклеточного АТФ, АДФ и АМФ до аденозина [12]. Кроме того, выделяют ось ферментов гидролаза CD38–CD203a (экто-нуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза-3), которая действует на поверхности клетки независимо или совместно с путем CD39–CD73, и также способствует метаболизму внеклеточных пуринов [15]. В частности, CD38 катализирует синтез циклической АДФ-рибозы из никотинамидадениндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>) и опосредует гидролиз циклической АДФ-рибозы до линейной формы АДФ-рибозы на поверхности клетки [85]. Пирофосфатаза/фосфодиэстераза CD203a способна гидролизировать НАД<sup>+</sup>, АДФ-рибозу и АТФ с образованием АМФ, который далее может расщепляться до аденозина с помощью CD73 [92, 143]. Ферменты, синтезирующие и катаболизирующие производные пуринов, вовлечены в точную регуляцию (“колибрование”) состава, величин и продолжительности существования “пуринергического ореола” [10, 12, 92].

Пуринергическая регуляция поддерживает гомеостаз и регулирует важнейшие системы органов, в том числе сердечно-сосудистую, выделительную (почки), желудочно-кишечную, центральную нервную и иммунную системы [11, 18, 30, 35]. Большинство подтипов пуринергических рецепторов широко представлены на различных клетках организма и высоко экспрессируются в центральной и периферической нервной системе. В физиологических условиях они обычно вовлечены в двунаправленную нейронно-глиальную коммуникацию, оказывая долгосрочное влияние на пролиферацию, дифференцировку и миграцию нейронов (в том числе рост и направленное

движение аксонов) и глиальных клеток [52]. В пресинаптических окончаниях и конусах роста аксонов располагаются рецепторы P2X<sub>7</sub>, которые модулируют действие других нейромедиаторов, влияя на активность нейронов, и могут координировать ответы микроглии, нейронов и астроглии [70, 158].

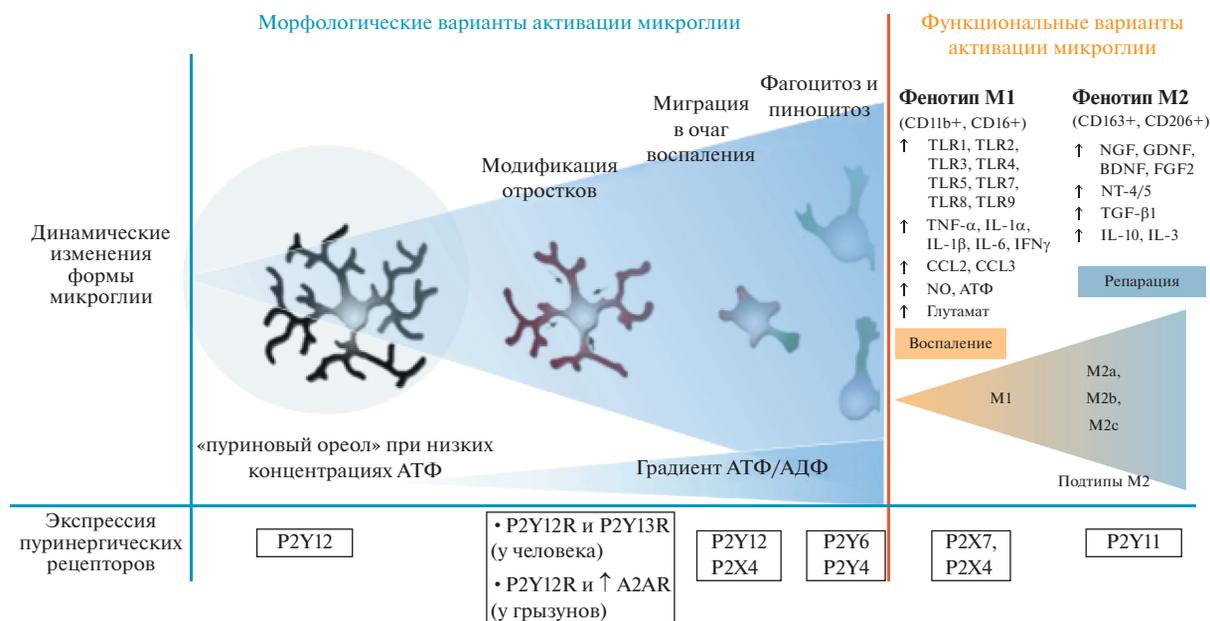
При нарушениях гомеостаза пурины накапливаются во внеклеточном пространстве в ответ на повреждение, травмы и изменения во внеклеточной среде (например, гипоксия, ацидоз, нарушения ионного баланса и изменения уровня гормонов и нейротрансмиттеров) и передача пуринергических сигналов в этих условиях связана с регуляцией функции органа или ткани.

### АТФ КАК РЕГУЛЯТОР НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ЧМТ

АТФ, высвобождаемый клетками с нарушенной плазматической мембраной, действует как провоспалительный DAMP [34], при связывании с P2XR он может усиливать воспаление и проявлять повреждающие свойства [73].

После ЧМТ высвобождение АТФ из поврежденных астроцитов в течение нескольких минут активирует микроглию, которая при этом меняет свои морфологические характеристики [94]. Показано, что в состоянии покоя микроглия имеет очень разветвленную форму и непрерывно сканирует определенную территорию паренхимы множеством мелких подвижных отростков, регистрируя тканевые аномалии. При активации отростки клеток микроглии направляются к месту повреждения со средней скоростью выдвигания и втягивания 1.47 мкм в минуту (в диапазоне от 0.4 и 3.8 мкм в минуту соответственно) [135]. Затем отростки начинают втягиваться, тело клетки увеличивается в размерах и приобретает сферическую (амебодную) форму [93]. Наконец, измененная клетка микроглии начинает мигрировать к месту повреждения со скоростью 1–2 мкм в час [135]. АТФ определен как хемоаттрактант для микроглии, а его высокие концентрации во внеклеточном пространстве связаны с плохими исходами ЧМТ [136]. Таким образом, микроглия не только очищает поврежденный мозг от клеточного дебриса, но и помогает поддерживать целостность глиального барьера, блокируя проникновение крупных молекул и дебриса через пограничную глиальную мембрану в паренхиму мозга, закрывая бреши, возникающие на месте погибших или поврежденных астроцитов [44].

Исследование функциональных характеристик активированной микроглии показало, что она может принимать “классический” активированный фенотип M1 (CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) [83, 120], при такой активации она способна фагоцитиро-



**Рис. 3.** Пуринергический контроль активности микроглии в участках повреждения мозга.

Распространением отростков микроглии в участке паренхимы мозга управляют рецепторы P2Y12. Втягивание отростков определяется повышением концентрации АТФ/АДФ и активацией P2Y12R и P2Y13R у человека и P2Y12R и A2AR (у грызунов). Миграционная активность микроглии по градиенту пуринов контролируется рецепторами P2Y12 и P2X4. Приобретая амебондную морфологию, клетки микроглии приступает к фагоцитозу и пиноцитозу, которые индуцируются активацией P2Y6R и P2Y4R.

Активированная микроглии может принимать классический активированный фенотип M1, в этом состоянии она способна к фагоцитозу и киллингу патогенных бактерий, продукции воспалительных медиаторов, реактивных радикалов кислорода и азота. Фенотип “альтернативной активации” M2 связан с фагоцитозом клеточного дебриса и продукцией многочисленных факторов роста, что характерно для поддержки репаративных процессов. Для фенотипа M2 выделяют так называемые смешанные фенотипы (подтипы a, b, c). Формирование фенотипов M1 и M2 связано с активацией пуринергических рецепторов, роль в этом процессе некоторых пуринорецепторов уже определена.

вать патогенные бактерии, выделять микровезикулы [171] и высвобождают провоспалительные цитокины (IL-1β, TNF-α, IFNγ, IL-12), хемокины, протеазы, активные формы кислорода/азота, а также АТФ и глутамат, используя экзоцитоз везикул (рис. 3) [105].

Кроме того, был выявлен также фенотип “альтернативной активации” микроглии M2 (CD163+, CD206+), для которого характерно вовлечение в фагоцитоз клеточного дебриса и высвобождение многочисленных защитных факторов (IL-4, IL-13, фактор роста нервов (NGF), фактор роста фибробластов (FGF)) [71]. Считается, что микроглия в состоянии M1 участвует в воспалительных и иммунных защитных реакциях ЦНС, а в состоянии M2 – в репаративных реакциях. Позднее микроглию M2 (как и макрофаги) разделили на три подтипа (M2a, M2b, M2c) [90], а также выявили существование клеток смешанных фенотипов M1/M2 [38]. В настоящее время представление о дихотомии M1/M2 признано упрощенным. Показано, что не существует определенного дискретного числа реактивных фенотипов микроглии, а имеется разнообразие состояний, которые формируются сигналами окружающей среды, что

позволяет клеткам микроглии выполнять определенные функции в различных физиологических и патологических состояниях [90]. Также показано, что активация микроглии может быть частично обратимой, что также зависит от контекста, стимулов и условий, в которых эти стимулы появляются [129]. Показано, что блокирование рецепторов P2X4 и P2X7 отменяет активацию микроглии по типу M1 [77]. Недавно показано, что в макрофагах, поляризующихся как M2, повышается уровень экспрессии P2Y11, однако тождественность этого процесса для микроглии еще предстоит подтвердить [80].

Хотя АТФ связывает все рецепторы семейства P2X [76], участие в регуляции процессов после ЧМТ определено только для P2X7R [108]. Для P2X4R показано, что он опосредует с увеличение секреции нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) в микроглии спинного мозга [110, 123].

P2X7R экспрессируется преимущественно в микроглии коры головного мозга [106] и значительно отличается от других P2XR по строению (может собираться как гомотример, так и гетеродимер) [150] и тем, что для активации ему необхо-

дима такая высокая (миллимолярная) концентрация АТФ, какая присутствует в участках воспаления и повреждения мозга через 6–12 ч после ЧМТ [116]. P2X7R регулирует активацию инфламмасом, индукцию медиаторов воспаления и выработку свободных радикалов [17, 78, 102]. Через P2X7R АТФ также стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов микроглией [7, 155, 156], и секрецию IL-1 $\beta$  нейтрофилами (опосредованную инфламмасомой NLRP3) [101], а также усиливает образование внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) [157]. Помимо немедленных эффектов активации, P2X7R вызывает длительные молекулярные изменения, такие как пролиферация и апоптоз [121]. Однако длительное (30 мин) воздействие миллимолярных концентраций АТФ снижает фагоцитарную активность микроглии через P2X7R, что опосредуется Ca<sup>2+</sup>-независимым механизмом [68].

P2X7R активирует несколько внутриклеточных сигнальных каскадов, таких как пути кальмодулина, митоген-активируемой протеинкиназы и фосфолипазы D. При низких концентрациях АТФ (микромольный диапазон) активация P2X7R открывает катионный канал, как и другие рецепторы P2X. Однако в присутствии высоких концентраций АТФ (0.05–1 мМ) он открывает путь, позволяющий проходить более крупным органическим катионам и анионам [6].

P2X7 обладает разной способностью к созданию большой поры в культурах астроцитов коры и гипоталамуса. Несмотря на то, что функциональный P2X7 рецептор экспрессирован в обоих перечисленных регионах мозга, только в коре он способен индуцировать открытие большой поры, что ведет к повышенной экспрессии IL-1 $\beta$ . Возможно, это приводит к тому, что кора больших полушарий больше подвержена травматическим воздействиям [108]. P2X7 рассматривают как основную потенциальную мишень при создании лекарственных средств, предотвращающих развитие вторичной травмы [36].

Из всего семейства рецепторов P2Y АТФ связывают только P2Y2 и P2Y11 [169], однако их роль в регуляции микроглии мало изучена. Показано, что стимуляция АДФ-связывающих рецепторов P2Y1 уменьшает отек, ослабляет реактивный астроглиоз и усиливает неврологическую функцию после ЧМТ [40, 161].

Регуляция функций микроглии в условиях нейровоспаления сопровождается изменением экспрессии пуринергических рецепторов (рис. 3), что было первоначально исследовано у грызунов. Показано, что на раннем этапе активации стимуляция рецепторов P2Y12 западает процесс удлинения и расширения отростков микроглии грызунов по направлению к месту повреждения [50]. Расширением отростков микроглии совместно

управляют рецепторы P2Y12 [88, 154] и аденозиновый рецептор семейства P1 A3R [110]. Впоследствии этот процесс останавливается из-за снижения экспрессии P2Y12R и повышения экспрессии A2AR. Появляющаяся после этих изменений миграционная активность микроглии контролируется рецепторами P2Y12 и P2X4. После втягивания микроглиальных отростков и приобретения амебоидной морфологии, клетки приступают к фагоцитозу и пиноцитозу, которые индуцируются активацией P2Y6R и P2Y4R соответственно. При фармакологическом блокировании рецепторов P2Y6 после ЧМТ увеличивается проницаемость пограничной глиальной мембраны и усиливается гибель клеток мозга [147].

Недавно было выполнено исследование подвижности микроглии, управляемой пуриновыми молекулами, у человека (на образцах ткани мозга, полученной от больных мезиальной височной эпилепсией или в перитуморальной ткани коры мозга). В культуре микроглии человека АДФ в разных концентрациях запускал противоположные типы движения: низкие дозы приводили к удлинению отростков, а более высокие — к втягиванию отростков и сморщиванию мембраны. Блокирование этих эффектов достигалось при совместном применении антагонистов рецепторов P2Y1 и P2Y13. Эти наблюдения позволили авторам заключить, что индуцированная пуринами подвижность микроглии человека сходна с таковой у микроглии грызунов в том, что удлинение ее отростков инициирует P2Y12R, но отличается тем, что втягивание отростков запускается совместной активацией рецепторов P2Y1/P2Y13R, а не через аденозиновый рецептор A2A, который на микроглии человека экспрессирован слабо [125].

Суммируя последствия АТФ-регуляции в условиях ЧМТ, отмечают, что при легкой форме повреждения АТФ вызывает острую воспалительную реакцию, имеющую нейропротекторную направленность, однако при длительной активации микроглия становится инициатором вторичных повреждений, связанных АТФ-зависимой активацией инфламмасом, что усиливает активацию клеток врожденного иммунитета и увеличивает размер травматического повреждения при ЧМТ [51, 147].

## АДЕНОЗИН КАК РЕГУЛЯТОР НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

В стерильных условиях воспалительные и иммунные реакции обычно быстро ослабевают, поскольку АТФ теряет свои фосфатные группы и трансформируются в АДФ/АМФ и аденозин при участии ряда ферментов, а именно эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы 1 (E-NTPDase1, CD39) и экто-5'-нуклеотидазы (CD73), представленных как на клетках ЦНС, так и иммунных

клетках [24, 146]. На астроцитах и микроглии экспрессируется, по крайней мере, по одному из этих эктоферментов, что позволяет им совместно контролировать АТФ-опосредованное нейровоспаление [28, 134]. Последовательная доступность пуриновых регуляторов от АТФ до аденозина обеспечивает условия для активации микроглии, повышения уровня внеклеточного аденозина и изменение экспрессии пуринергических рецепторов.

Аденозин может продуцироваться внутриклеточно и напрямую транспортироваться во внеклеточное пространство, но при патологических состояниях он в основном образуется внеклеточно при ферментативном вычленении фосфатных групп из АТФ/АДФ ферментными каскадами CD39–CD73 и/или CD38–CD203a [15, 128].

Свободный аденозин в головном мозге обычно находится в наномолярном диапазоне [112]. Однако его уровни значительно повышаются при состояниях, связанных с повышенной метаболической потребностью, гипоксией, воспалением и повреждением тканей. В частности, повышенные уровни внеклеточного аденозина наблюдались при таких патологических состояниях, как боль [58], эпилепсия [79, 63], ишемия [74, 141], злокачественные новообразования [124] и воспаление [13].

Аденозин определяют как регуляторный аутокоид, обладающий множеством эффектов. Аденозин может действовать на четыре типа пуринергических P1-рецепторов (A1, A2A, A2B и A3), которые объединены с ингибиторными (Gi) или стимулирующими (Gs) G-белками [25]. Рецепторы A2, повышающие уровни цАМФ, разделены на две группы: A2A с высоким сродством и рецепторы A2B с низким сродством к лиганду [141]. Ингибиторные свойства показаны для рецепторов A1 и A3, которые подавляют активность аденилатциклазы, тогда как A2A и A2B стимулируют этот фермент.

Рецепторы A1 и A2A дополняют друг друга в процессах ингибиции высвобождения возбуждающих аминокислот и поддержания постсинаптической гиперполяризации [48], участвуют в формировании кальциевой волны в астроцитарном синцитиуме [82]. Астроциты высвобождают аденозин к эндотелиальным клеткам, вызывая вазодилатацию за счет активации на них рецептора A2A, который усиливает местную гемодинамику и обеспечивает дополнительную метаболическую поддержку, необходимую во время интенсивной синаптической стимуляции [87]. Рецепторы A2B и A3 низкоаффинные, чувствительны к микромолярным концентрациям аденозина [62]. Они широко экспрессируются на астроцитах, хотя и на низких уровнях [56]. Рецепторы A2B активируются в условиях ишемии [173] и быстро запус-

кают выработку IL-6, что поддерживает воспалительную реакцию после травмы [165].

Действие аденозина, в свою очередь, прекращается после его деградации ферментом аденозиндеаминазой (ADA) до инозина [65] или трансформацией в АМФ аденозинкиназой (ADK) [127]. Внеклеточный аденозин быстро поглощается клетками окружающей ткани с помощью транспортеров нуклеозидов, уравнивающих его вне- и внутриклеточные концентрации (ENT1–4) [152].

Помимо своей роли в качестве сигнальной молекулы, аденозин является посредником в метаболическом пути, который включает азотистое основание аденин, нуклеотид АТФ и вторичный мессенджер циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) [118]. Модуляция уровней цАМФ активирует или ингибирует большое количество путей передачи сигналов в зависимости от типа вовлеченных клеток.

Хотя иногда сам аденозин способствует поддержанию различных патологических состояний (например, при опухолевом росте) [124], его обычно считают защитным и гомеостатическим медиатором в условиях повреждения тканей и стрессовых состояний [26]. В физиологических и стрессовых условиях внеклеточные концентрации аденозина поддерживаются на низком уровне в результате его быстрого метаболизма и поглощения [168].

## АДЕНОЗИН ПРИ ЧМТ

Через 1 ч после ЧМТ у человека и животных повышается уровень аденозина в спинномозговой жидкости и интерстициальном пространстве [19, 42]. Самые высокие уровни аденозина обычно наблюдаются в ранний период после ЧМТ, хотя у детей было отмечено и более позднее повышение (через 72 ч) что, как считают, отражает прогрессирование вторичной травмы [145].

При экспериментальной черепно-мозговой травме генетическая или фармакологическая блокада A1R подавляет морфологическую активацию микроглии, вероятно, подавляя АТФ-индуцированное проникновение  $Ca^{2+}$  в клетки [84, 117]. Аналогичным образом и передача аденозиновых сигналов через A3R способствует смягчению вторичного повреждения и уменьшению площади ишемии в окружающей мозговой ткани, поддерживая защитные эффекты и сохранение когнитивной функции после ЧМТ [69]. Хотя конститутивная экспрессия A1AR и A2AR в головном мозге выше, чем A3AR [25, 64], однако при быстром повышении внеклеточного уровня аденозина вскоре после ЧМТ задействованы, вероятно, бывают все три перечисленных типа рецепторов. Привлечение всех этих рецепторов обеспечивает

контроль над нейровоспалением, развивающимся после первичного повреждения.

Регуляция внеклеточного аденозина в значительной степени управляется внутриклеточной аденозинкиназой (ADK), которая превращает внутриклеточный аденозин в аденозинмонофосфат, что приводит к втягиванию внеклеточного аденозина в клетку по градиенту его концентрации [23]. Повышенная активность аденозинкиназы, наблюдаемая при патологических состояниях, истощает внутриклеточный аденозин [23]. После ЧМТ повышенная экспрессия ADK в астроцитах связана с гибелью нейронов и астроглиозом, а подавление ADK в астроцитах снижает их провоспалительный фенотип [99]. Кроме того, у мышей со сверхэкспрессией ADK после повреждения коры при ЧМТ была нарушена пролиферация нервных стволовых клеток, а при фармакологическом ингибировании ADK пролиферация нервных стволовых клеток после ЧМТ усиливалась [75]. На уровень внеклеточного аденозина влияет и превращение внеклеточного АТФ в аденозин эктонуклеотидазами [12, 21].

Однако высокие уровни аденозина, связанные с его быстрым высвобождением, оказываются краткосрочными, поскольку после ЧМТ церебральный кровоток не обеспечивает оптимального потребления кислорода в месте повреждения, что приводит к нарушению метаболизма аденозина [118]. На экспериментальных моделях показано, что после ЧМТ одновременно с повышением высвобождения аденозина нарушается гидролиз АМФ экто-5'-нуклеотидазой (CD73) в областях коры [21, 132] и в гиппокампе [21].

При низкой внеклеточной концентрации обеспечивается связывание аденозина только с A1AR и A2AR, но при такой концентрации не обеспечивается необходимая экспрессии и связывания A3AR, что создает условия для поддержания нейровоспаления.

При расщеплении аденозина ферментом ADA образуется инозин, который имеет иммуномодулирующее, кардиопротекторное и цитопротекторные действие [86, 159, 166]. Эндогенные аденозин и инозин обладают цитопротекторной активностью при различных формах ишемии, в том числе при ЧМТ [167]. Инозин оказывает сильное защитное действие [61, 119] благодаря своим антиоксидантным и противовоспалительным эффектам [148, 163]. Действуя как антиоксидант, инозин снижает уровни реактивных радикалов кислорода и азота, увеличивает активность ферментов каталазы (CAT), глутатионпероксидазы (GPx) и супероксиддисмутазы в структурах мозга [148] и повышает уровни восстановленного глутатиона. Инозин действует и как поглотитель свободных радикалов [81], способный снизить выработку перекиси водорода и гидроксильных

радикалов и предотвратить окислительное повреждение ДНК. Другие возможные механизмы, вовлеченные в антиоксидантный эффект инозина, могут быть связаны с его дальнейшим расщеплением до мочевого кислоты.

### ПЕРСПЕКТИВЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕЛЕКТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА

Поскольку пуринергические сигналы вовлечены в регуляцию широкого спектра физиологических и патофизиологических процессов, протекающих в ЦНС, иммунной и других системах, имеются теоретические предпосылки для исследования влияния нуклеотидных и нуклеозидных препаратов на функции различных органов и систем организма в норме и при патологии [30, 35, 36]. Известно, что широкий ряд противовоспалительных средств, таких как циклоспорин, салицилаты (аспирин), метотрексат, сульфасалазин и его аналоги, а также тофацитиниб (ингибитор JAK–STAT пути), оказывают свое противовоспалительное действие (в том числе) путем увеличения внеклеточного уровня аденозина [37, 46, 47, 109].

В последние годы, преимущественно благодаря использованию методов рентгеноструктурного анализа рецепторных белков и позитронно-эмиссионной томографии различных отделов мозга, удалось существенно расширить представления о физиологической роли пуринергических рецепторов ЦНС и лучше изучить молекулярные механизмы связывания их селективных агонистов и антагонистов. Так, в частности, недавно была пересмотрена специфичность некоторых соединений, считавшихся селективными для A1AR или A3AR [95]. Показано, многие из разработанных лигандов P2R пока еще не обладают биодоступностью к целевым тканям-мишеням, в частности, забарьерным структурам ЦНС, или являются гидролитически нестабильными [3, 95]. Значительную проблему для исследований и разработок представляют и межвидовые различия пуринопептидов, что сказывается на снижении степени селективности используемых лигандов в опытах на различных видах модельных животных и при попытке применения препаратов, изученных на животных, в клинических экспериментах у пациентов.

Эксперименты показали, что при ЧМТ использование антагонистов метаболитных рецепторов P2Y2, P2Y4, P2Y6 и P2Y12 снижает повреждение нейронов [172]. Однако наиболее популярной мишенью в исследованиях пуринергической регуляции при ЧМТ стал рецептор P2X7. По результатам оценки поведенческих тестов показано, что полная генетическая или фармакологическая блокада P2X7 уменьшает нейровоспаление и

улучшает исходы в моделях ЧМТ с контролируемым кортикальным повреждением у мышей [108]. Использование фармакологических антагонистов P2X7R значительно снижало количество регистрируемых микровезикул в поврежденных и прилегающих областях мозга, в спинномозговой жидкости, и улучшало исходы после ЧМТ, в том числе и связанные с поведением травмированных животных [116]. Аналогичное защитное действие блокирования P2X7 было показано и при травме спинного мозга (уменьшение площади повреждения, потери нейронов, ослабление местной воспалительной реакции при улучшении исходов) [41]. Поскольку в экспериментах на клеточных культурах и животных моделях фармакологические антагонисты P2X7R способствовали выживаемости нейронов и нормализации поведения животных после экспериментальной ЧМТ, это дает основание для предположений о возможности их использования в качестве препаратов для лечения вторичного повреждения [53].

Одна из трудностей, препятствующих получению препаратов для фармакологического воздействия на пуринергическую систему, связана с широким распространением в организме рецепторов P1 и P2, их участием в регуляции различных физиологических функций, что увеличивает вероятность проявления побочных эффектов. Оказалось, хотя многие лиганды, действующие на пуринергическую систему, являются достаточно селективными и демонстрируют обнадеживающие положительные эффекты в доклинических исследованиях, их эффективность в клиническом эксперименте оказалась невысокой. Антагонисты рецептора P2X7 являются ярким примером этого. Когда новые и безопасные антагонисты рецепторов P2X7, которые были эффективны в экспериментальных моделях воспаления (рассеянный склероз, хроническое воспалительное заболевание кишечника и ревматоидный артрит), были испытаны в клинике, результаты оказались неудовлетворительными [67, 104, 160].

Анализируя причину клинических неудач, ссылаются на наличие индивидуальных особенностей рецептора P2X7, влияющих на его функцию (однонуклеотидный полиморфизм) [7]. Также оказалось, что сборка и функционирование рецептора P2X7 зависит от липидного состава клеточной мембраны, в которой этот рецептор собирается [100]. Следовательно, на один и тот же фармакологический агент клетки в разном функциональном состоянии (что отражается на составе липидов их мембран) будут отвечать по-разному. Очевидно, что это создает дополнительные трудности при прогнозировании организменных эффектов препаратов, специфичных для P2X7.

Характеризуя имеющиеся лиганды различных подтипов пуринергических рецепторов, пред-

ставленных в нервной системе, Jacobson и Müller отмечают, что пока имеющиеся агенты пригодны только как фармакологические инструменты для определения физиологических функций различных подтипов пуринорецепторов [95].

Кроме химических лигандов пуринергических рецепторов, разрабатываются также новые фармакологические агенты, способные модулировать активность ферментов, участников метаболизма пуринов [9]. Однако пока нет данных о получении селективных ингибиторов эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы, способных проникать через ГЭБ [16]. Мишенями при разработке препаратов, направленных на повышение уровня аденозина, могут быть ингибиторы ферментов ADA и ADK [151]. Однако препаратов, готовых к клиническому использованию в этой группе ферментных ингибиторов пока нет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В физиологических условиях в ткани мозга человека и экспериментальных животных пуриновые нуклеотиды и нуклеозиды, в частности АТФ и аденозин, модулируют сигналы, обеспечивающие связь между нейронами, а также между нейронами и клетками микроглии, синхронизируя совместную деятельность этих структур. Черепно-мозговая травма приводит к развитию несбалансированного воспаления и нарушению пуринергической регуляции как в структурах мозга, так и в иммунной системе. При этом действие внеклеточного АТФ на клетки иммунной системы приводит к их стимуляции и запуску защитных реакций организма [30]. Информация, переносимая АТФ и аденозином в ЦНС влияет на изменения сна, памяти, обучаемости, двигательной активности и восстановление тканевых повреждений после ЧМТ [32, 36]. Эти события определяют информативность исследования уровней АТФ и аденозина в ЦСЖ и/или активности ферментов, контролируемых их метаболизм, а их результаты позволяют получать важную в патогенетическом и прогностическом плане информацию о течении посттравматического процесса.

Основные усилия фармакологов в области биомедицинских исследований ЧМТ пока направлены на разработку и испытание селективных агонистов/антагонистов, блокаторов ключевых структур пуринергической системы (рецепторы, ферменты), способных изменять течение воспалительных процессов в ЦНС. Однако, нам представляется, что на современном этапе центральное внимание исследователей должны привлечь, если и не системные, то хотя бы комплексные аспекты многообразных изменений пуринергической регуляции, рассматриваемые с учетом характера патологии, локализации по-

вреждения, фактора времени и предшествующего состояние тканей и организма.

Пока многолетнее и многостороннее изучение пуринергической регуляции привело к появлению и клиническому внедрению только одного антагониста пуринергического рецептора P2Y<sub>12</sub>R, препарата Clopidogrel, способного ингибировать активацию тромбоцитов. Причем относительная эффективность результативности этого ингибитора связана с тем, что в условиях целого организма рецепторы P2Y<sub>12</sub> представлены только на тромбоцитах и микроглии. Учитывая отсутствие столь избирательно локализации для других перинергических рецепторов и ряд вышеперечисленных физиологических, биохимических и генетических особенностей пуринергической регуляции нейровоспаления, представляется, что использование селективных антагонистов или агонистов пуриновых рецепторов еще долго будет оставаться исследовательским инструментом, а для клинической практики потребуются препараты другого типа, способные оказывать комплексное корректирующее воздействие в патофизиологических условиях дефицита или избытка пуринергических медиаторов при остром, затяжном или хроническом воспалении различных структур ЦНС, любой нейротравме, в частности, ЧМТ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шевченко К.В., Четвертных В.А., Кравцов Ю.И. Иммунопатологические изменения при тяжелой черепно-мозговой травме // Иммунология. 2009. Т. 30. № 3. С. 180. <https://www.medlit.ru/journal/403>
2. Янкевич И.А., Шустов М.В., Мартышкина Ю.С., Филатенкова Т.А. Стресс-индуцированное повышение экспрессии генов TLR2, TLR3 и TLR4 в клетках гипоталамуса // Медицинский академический журн. 2020. Т. 20. № 2. С. 11. <https://doi.org/10.17816/MAJ33432>
3. Abe N., Nishihara T., Yorozuya T., Tanaka J. Microglia and Macrophages in the Pathological Central and Peripheral Nervous Systems // Cells. 2020. V. 9. P. 2132. <https://doi.org/10.3390/cells9092132>
4. Abiega O., Beccari S., Diaz-Aparicio I., Nadjar A. et al. Neuronal Hyperactivity Disturbs ATP Microgradients, Impairs Microglial Motility, and Reduces Phagocytic Receptor Expression Triggering Apoptosis/Microglial Phagocytosis Uncoupling // PLoS Biol. 2016. 14:e1002466. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002554>
5. Able S.L., Fish R.L., Bye H. et al. Receptor localization, native tissue binding and ex vivo occupancy for centrally penetrant P2X<sub>7</sub> antagonists in the rat // Br. J. Pharmacol. 2011. V. 162. P. 405. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01025.x>
6. Alves L., de Melo Reis R., de Souza C. et al. The P2X<sub>7</sub> receptor: shifting from a low- to a high-conductance channel – an enigmatic phenomenon? // Biochim. Biophys. Acta. 2014. V. 1838. P. 2578. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.05.015>
7. Andrejew R., Oliveira-Giacomelli Á., Ribeiro D.E. et al. The P2X<sub>7</sub> Receptor: Central Hub of Brain Diseases // Front. Mol. Neurosci. 2020. V. 31. P. 124. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00124>
8. Anthonymuthu T.S., Kenny E.M., Bayir H. Therapies targeting lipid peroxidation in traumatic brain injury // Brain Res. 2016. V. 1640 (Pt A). P. 57. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.02.006>
9. Antonioli L., Blandizzi C., Pacher P., Haskó G. The Purinergic System as a Pharmacological Target for the Treatment of Immune-Mediated Inflammatory Diseases // Pharmacol. Rev. 2019. V. 71. P. 345. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014878>
10. Antonioli L., Colucci R., La Motta C. et al. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders // Curr. Drug Targets. 2012. V. 13. P. 842. <https://doi.org/10.2174/138945012800564095>
11. Antonioli L., Fornai M., Colucci R. et al. Control of enteric neuromuscular functions by purinergic A(3) receptors in normal rat distal colon and experimental bowel inflammation // Br. J. Pharmacol. 2010. V. 161. P. 856. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00917.x>
12. Antonioli L., Pacher P., Vizi E.S., Haskó G. CD39 and CD73 in immunity and inflammation // Trends Mol. Med. 2013. V. 19. P. 355. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.03.005>
13. Antonioli L., Csóka B., Fornai M. et al. Adenosine and inflammation: What's new on the horizon? // Drug Discov. Today. 2014. V. 19. P. 1051. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.02.010>
14. Arac A., Grimbaldston M.A., Galli S.J., Bliss T.M., Steinberg G.K. Meningeal mast cells as key effectors of stroke pathology // Front. Cell Neurosci. 2019. V. 13. P. 126. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00126>
15. Bahri R., Bollinger A., Bollinger T., Orinska Z., Bulfone-Paus S. Ectonucleotidase CD38 demarcates regulatory, memory-like CD8<sup>+</sup> T cells with IFN- $\gamma$ -mediated suppressor activities // PLoS One. 2012. V. 7. e45234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045234>
16. Baqi Y., Rashed M., Schäkel L. et al. Development of Anthraquinone Derivatives as Ectonucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase (NTPDase) Inhibitors With Selectivity for NTPDase2 and NTPDase3 // Front. Pharmacol. 2020. V. 11. P. 1282. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01282>
17. Bartlett R., Yerbury J.J., Sluyter R. P2X<sub>7</sub> receptor activation induces reactive oxygen species formation and cell death in murine EOC13 microglia // Mediators Inflamm. 2013. V. 5. P. 271813. <https://doi.org/10.1155/2013/271813>
18. Bele T., Fabbretti E. P2X receptors, sensory neurons and pain // Curr. Med. Chem. 2015. V. 22. P. 845. <https://doi.org/10.2174/0929867321666141011195351>
19. Bell M.J., Kochanek P.M., Carcillo J.A. et al. Interstitial adenosine, inosine, and hypoxanthine are increased after experimental traumatic brain injury in the rat // J. Neurotrauma. 1998. V. 15. P. 163–70. <https://doi.org/10.1089/neu.1998.15.163> PMID: 9528916
20. Bjelobaba I., Parabucki A., Lavrnja I. et al. Dynamic changes in the expression pattern of ecto-5'-nucleoti-

- dase in the rat model of cortical stab injury // *J. Neurosci. Res.* 2011. V. 89. P. 862.  
<https://doi.org/10.1002/jnr.22599>
21. *Bjelobaba I., Stojiljkovic M., Lavrnja I. et al.* Regional changes in ectonucleotidase activity after cortical stab injury in rat // *Gen. Physiol. Biophys.* 2009. V. 28 Spec No. P. 62.
  22. *Block M.L., Zecca L., Hong J.S.* Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms // *Nat. Rev. Neurosci.* 2007 Jan; 8(1): 57–69.  
<https://doi.org/10.1038/nrn2038j>
  23. *Boison D.* Adenosine kinase: exploitation for therapeutic gain // *Pharmacol. Rev.* 2013. V. 65. P. 906.  
<https://doi.org/10.1124/pr.112.006361>
  24. *Bono M.R., Fernández D., Flores-Santibáñez F., Roseblatt M., Sauma D.* CD73 and CD39 ectonucleotidases in T cell differentiation: Beyond immunosuppression // *FEBS Letters.* V. 2015. V. 589. P. 3454.  
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.07.027>
  25. *Borea P.A., Gessi S., Merighi S., Vincenzi F., Varani K.* Pharmacology of Adenosine Receptors: The State of the Art // *Physiol. Rev.* 2018. V. 98. P. 1591.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2017>
  26. *Borea P.A., Gessi S., Merighi S., Varani K.* Adenosine as a Multi-Signalling Guardian Angel in Human Diseases: When, Where and How Does it Exert its Protective Effects? // *Trends Pharmacol. Sci.* 2016. V. 37. P. 419.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.02.006>
  27. *Braun M., Vaibhav K., Saad N.M. et al.* White matter damage after traumatic brain injury: A role for damage associated molecular patterns // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2017. V. 1863(10 Pt B). P. 2614–2626.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.05.020>
  28. *Braun N., Sévigny J., Robson S.C. et al.* Assignment of ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1/cd39 expression to microglia and vasculature of the brain // *Eur. J. Neurosci.* 2000. V.12. P. 4357. PMID: 11122346
  29. *Bsibsi M., Ravid R., Gveric D., van Noort J.M.* Broad expression of Toll-like receptors in the human central nervous system // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002. V. 61. P. 1013.  
<https://doi.org/10.1093/jnen/61.11.1013>
  30. *Burnstock G., Boeynaems J.M.* Purinergic signalling and immune cells // *Purinergic Signal.* 2014. V. 10. V. 529.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-014-9427-2>
  31. *Burnstock G., Dumsday B., Smythe A.* Atropine resistant excitation of the urinary bladder: the possibility of transmission via nerves releasing a purine nucleotide // *Br. J. Pharmacol.* 1972. V. 44. P. 451.
  32. *Burnstock G., Knight G.E.* Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems // *Int. Rev. Cytol.* 2004; V. 240. P. 31.  
[https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(04\)40002-3](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)40002-3)  
 PMID: 15548415
  33. *Burnstock G.* Physiopathological roles of P2X receptors in the central nervous system // *Curr. Med. Chem.* 2015. V. 22. P. 819–844.  
<https://doi.org/10.2174/0929867321666140706130415>
  34. *Burnstock G.* Purine and pyrimidine receptors // *Cell. Mol. Life Sci.* 2007. V. 64. P. 1471.  
<https://doi.org/10.1007/s00018-007-6497-0>
  35. *Burnstock G.* Purinergic Signaling in the Cardiovascular System // *Circ. Res.* 2017. V. 120. P. 207.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309726>
  36. *Burnstock G.* Purinergic Signalling and Neurological Diseases: An Update // *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2017. V. 16. P. 257.  
<https://doi.org/10.2174/1871527315666160922104848>
  37. *Capecchi P.L., Rechichi S., Lazzerini P.E. et al.* Cyclosporin and tacrolimus increase plasma levels of adenosine in kidney transplanted patients // *Transpl. Int.* 2005. V. 18. P. 289–95.  
<https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2004.00036.x>
  38. *Casella G., Garzetti L., Gatta A.T. et al.* IL4 induces IL6-producing M2 macrophages associated to inhibition of neuroinflammation in vitro and in vivo // *J. Neuroinflammation.* 2016. V. 13. V. 139.  
<https://doi.org/10.1186/s12974-016-0596-5>
  39. *Chakravarty S., Herkenham M.* Toll-like receptor 4 on nonhematopoietic cells sustains CNS inflammation during endotoxemia, independent of systemic cytokines // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. P. 1788.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4268-04.2005>
  40. *Choo A.M., Miller W.J., Chen Y.C. et al.* Antagonism of purinergic signalling improves recovery from traumatic brain injury // *Brain.* 2013. V. 136(Pt 1). P. 65.  
<https://doi.org/10.1093/brain/aws286>
  41. *Cisneros-Mejorado A.J., Pérez-Samartín A., Domercq M. et al.* P2X7 Receptors as a Therapeutic Target in Cerebrovascular Diseases // *Front. Mol. Neurosci.* 2020. V. 18. P. 92.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00092>
  42. *Clark R.S., Carcillo J.A., Kochanek P.M. et al.* Cerebrospinal fluid adenosine concentration and uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism after severe head injury in humans // *Neurosurgery.* 1997 V. 41. P. 1284.  
<https://doi.org/10.1097/00006123-199712000-00010>
  43. *Cohen M.J., Brohi K., Ganter M.T., Manley G.T., Mackersie R.C., Pittet J.F.* Early coagulopathy after traumatic brain injury: the role of hypoperfusion and the protein C pathway // *J. Trauma.* 2007. V. 63. P. 1254.  
<https://doi.org/10.1097/TA.0b013e318156ee4c>
  44. *Corps K.N., Roth T.L., McGavern D.B.* Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury // *JAMA Neurol.* 2015. V. 72. P. 355.  
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.3558>
  45. *Crain J.M., Nikodemova M., Watters J.J.* Expression of P2 nucleotide receptors varies with age and sex in murine brain microglia // *J. Neuro. Inflammation.* 2009; 6: 24.  
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-6-24>
  46. *Cronstein B.N., Montesinos M.C., Weissmann G.* Salicylates and sulfasalazine, but not glucocorticoids, inhibit leukocyte accumulation by an adenosine-dependent mechanism that is independent of inhibition of prostaglandin synthesis and p105 of NFkappaB // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1999. V. 96. P. 6377.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.96.11.6377>
  47. *Cronstein B.N.* Going with the flow: methotrexate, adenosine, and blood flow // *Ann. Rheum. Dis.* 2006. V. 65. P. 421. PMID: .  
<https://doi.org/10.1136/ard.2005.04960116531550>
  48. *Cunha R.A.* Different cellular sources and different roles of adenosine: A1 receptor-mediated inhibition through astrocytic-driven volume transmission and synapse-restricted A2A receptor-mediated facilitation

- of plasticity // *Neurochem. Int.* 2008. V. 52. P. 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.06.026>
49. *Das M., Mohapatra S., Mohapatra S.S.* New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury // *J. Neuroinflammation.* 2012. V. 9. P. 236. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-236>
  50. *Davalos D., Grutzendler J., Yang G. et al.* ATP mediates rapid microglial response to local brain injury *in vivo* // *Nat. Neurosci.* 2005. V. 8. P. 752. <https://doi.org/10.1038/nn1472>
  51. *de Rivero Vaccari J.P., Lotocki G., Alonso O.F. et al.* Therapeutic neutralization of the NLRP1 inflammasome reduces the innate immune response and improves histopathology after traumatic brain injury // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2009. V. 29. P. 1251. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.46>
  52. *Del Puerto A., Wandosell F., Garrido J.J.* Neuronal and glial purinergic receptors functions in neuron development and brain disease // *Front. Cell Neurosci.* 2013. V. 7. P. 197. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.0019>
  53. *Deussing J.M., Arzt E.* P2X7 receptor: a potential therapeutic target for depression? // *Trends Mol Med.* 2018. V. 24. P. 736. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.07.005>
  54. *Diaz-Arrastia R., Kochanek P.M., Bergold P. et al.* Pharmacotherapy of traumatic brain injury: state of the science and the road forward: report of the Department of Defense Neurotrauma Pharmacology Workgroup // *J. Neurotrauma.* 2014. V. 31. P. 135. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.3019>
  55. *Dinet V., Petry K.G., Badaut J.* Brain-immune interactions and neuroinflammation after traumatic brain injury // *Front. Neurosci.* 2019. V. 13. P. 1178. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01178>
  56. *Dixon A.K., Gubitzi A.K., Sirinathsinghji D.J., Richardson P.J., Freeman T.C.* Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat // *Br. J. Pharmacol.* 1996. V. 118. P. 1461. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb15561.x>
  57. *Donat C.K., Scott G., Gentleman S.M., Sastre M.* Microglial activation in traumatic brain injury // *Front Aging Neurosci.* 2017. V. 9. P. 208. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00208>
  58. *Donnelly-Roberts D., McGaraughty S., Shieh C.C., Honore P., Jarvis M.F.* Painful purinergic receptors // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2008. V. 324. P. 409. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.105890>
  59. *Dorsett C.R., McGuire J.L., Niedzielko T.L. et al.* Traumatic Brain Injury Induces Alterations in Cortical Glutamate Uptake without a Reduction in Glutamate Transporter-1 Protein Expression // *J. Neurotrauma.* 2017. V. 34. P. 220. <https://doi.org/10.1089/neu.2015.4372>
  60. *Dos Santos-Rodrigues A., Grane-Boladeras N., Bicket A., Coe I.R.* Nucleoside transporters in the purinome // *Neurochem. Int.* 2014. V. 73. P. 229. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.03.014>
  61. *Doyle C., Cristofaro V., Sullivan M.P., Adam R.M.* Inosine – a Multifunctional Treatment for Complications of Neurologic Injury // *Cell. Physiol. Biochem.* 2018. V. 49. P. 2293. <https://doi.org/10.1159/000493831>
  62. *Dunwiddie T.V., Masino S.A.* The role and regulation of adenosine in the central nervous system. *Annu // Rev. Neurosci.* 2001. V. 24. P. 31. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.31>
  63. *During M.J., Spencer D.D.* Adenosine: A potential mediator of seizure arrest and postictal refractoriness // *Ann. Neurol.* 1992. V. 32. P. 618. <https://doi.org/10.1002/ana.410320504>
  64. *Effendi W.I., Nagano T., Kobayashi K., Nishimura Y.* Focusing on Adenosine Receptors as a Potential Targeted Therapy in Human Diseases // *Cells.* 2020. V. 9. P. 785. <https://doi.org/10.3390/cells9030785>
  65. *Eltzschig H.K., Faigle M., Knapp S. et al.* Endothelial catabolism of extracellular adenosine during hypoxia: The role of surface adenosine deaminase and CD26 // *Blood.* 2006. V. 108. P. 1602. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-02-001016>
  66. *Emerich D.F., Dean R.L 3rd, Bartus R.T.* The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct? // *Exp. Neurol.* 2002. V. 173. P. 168–81. <https://doi.org/10.1006/exnr.2001.7835>
  67. *Eser A., Colombel J.F., Rutgeerts P. et al.* Safety and Efficacy of an Oral Inhibitor of the Purinergic Receptor P2X7 in Adult Patients with Moderately to Severely Active Crohn's Disease: A Randomized Placebo-controlled, Double-blind, Phase IIa Study // *Inflamm. Bowel Dis.* 2015. V. 21. P. 2247. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000514>
  68. *Fang K.M., Yang C.S., Sun S.H., Tzeng S.F.* Microglial phagocytosis attenuated by short-term exposure to exogenous ATP through P2X receptor action // *J. Neurochem.* 2009. V. 111. P. 1225–37. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06409.x>
  69. *Farr S.A., Cuzzocrea S., Esposito E. et al.* Adenosine A3 receptor as a novel therapeutic target to reduce secondary events and improve neurocognitive functions following traumatic brain injury // *J. Neuroinflammation.* 2020. V. 17. P. 339. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-02009-7>
  70. *Fields R.D., Stevens B.* ATP: an extracellular signaling molecule between neurons and glia // *Trends Neurosci.* 2000. V. 23. P. 625. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(00\)01674-x](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01674-x)
  71. *Franco R., Fernandez-Suarez D.* Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system // *Prog. Neurobiol.* 2015. V. 131. P. 65. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.05.003>
  72. *Franke H., Krügel U., Illes P.* P2 receptors and neuronal injury // *Pflugers Arch.* 2006. V. 452. P. 622. <https://doi.org/10.1007/s00424-006-0071-8>
  73. *Franke H., Schepper C., Illes P., Krügel U.* Involvement of P2X and P2Y receptors in microglial activation *in vivo* // *Purinergic Signal.* 2007. V. 3. P. 435. <https://doi.org/10.1007/s11302-007-9082-y>
  74. *Ganesana M., Venton B.J.* Early changes in transient adenosine during cerebral ischemia and reperfusion injury // *PLoS ONE.* 2018. 13:e0196932. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196932>
  75. *Gebriel H.M., Rose R.M., Gesese R. et al.* Adenosine kinase inhibition promotes proliferation of neural stem cells after traumatic brain injury // *Brain Commun.* 2020. 2. fcaa017. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa017>

76. Gever J.R., Cockayne D.A., Dillon M.P., Burnstock G., Ford A.P. Pharmacology of P2X channels // *Pflugers Arch.* 2006. V. 452. P. 513–37.  
<https://doi.org/10.1007/s00424-006-0070-9>
77. Gilbert D.F., Stebbing M.J., Kuenzel K. et al. Store-Operated Ca<sup>2+</sup> Entry (SOCE) and Purinergic Receptor-Mediated Ca<sup>2+</sup> Homeostasis in Murine bv2 Microglia Cells: Early Cellular Responses to ATP-Mediated Microglia Activation // *Front. Mol. Neurosci.* 2016. V. 28. P. 111.  
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00111>
78. Giuliani A.L., Sarti A.C., Falzoni S., Di Virgilio F. The P2X7 Receptor-Interleukin-1 Liaison // *Front. Pharmacol.* 2017. V. 8. P. 123. ,  
<https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00123>
79. Gompel J.J.V., Bower M.R., Worrell G.A. et al. Increased cortical extracellular adenosine correlates with seizure termination // *Epilepsia.* 2014. V. 55. P. 233.  
<https://doi.org/10.1111/epi.12511>
80. Gruenbacher G., Gander H., Rahm A. et al. The Human G Protein-Coupled ATP Receptor P2Y11 Is Associated With IL-10 Driven Macrophage Differentiation // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. P. 1870.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.018700>
81. Gudkov S.V., Shtarkman I.N., Smirnova V.S., Chernikov A.V., Bruskov V.I. Guanosine and inosine as natural antioxidants and radioprotectors for mice exposed to lethal doses of gamma-radiation // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2006. V. 407. P. 47.  
<https://doi.org/10.1134/s1607672906020013>
82. Halassa M.M., Fellin T., Haydon P.G. The tripartite synapse: roles for gliotransmission in health and disease // *Trends Mol. Med.* 2007. V. 13. P. 54.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2006.12.005>
83. Hanisch U.K., Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain // *Nat. Neurosci.* 2007. V. 10. P. 1387.  
<https://doi.org/10.1038/nn1997>
84. Haselkorn M.L., Shellington D.K., Jackson E.K. et al. Adenosine A1 receptor activation as a brake on the microglial response after experimental traumatic brain injury in mice // *J. Neurotrauma.* 2010. V. 27. P. 901.  
<https://doi.org/10.1089/neu.2009.1075>
85. Haskó G., Antonioli L., Cronstein B.N. Adenosine metabolism, immunity and joint health // *Biochem. Pharmacol.* 2018. V. 151. P. 307.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.02.002>
86. Haskó G., Sitkovsky M.V., Szabó C. Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine // *Trends Pharmacol. Sci.* 2004. V. 25. P. 152.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2004.01.006>
87. Haydon P.G., Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling // *Physiol. Rev.* 2006. V. 86. P. 1009.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2005>
88. Haynes S.E., Hollopeter G., Yang G. et al. The P2Y12 receptor regulates microglial activation by extracellular nucleotides // *Nat. Neurosci.* 2006. V. 12. P. 1512.  
<https://doi.org/10.1038/nn1805>
89. Hazeldine J., Lord J.M., Belli A. Traumatic brain injury and peripheral immune suppression: primer and prospectus // *Front. Neurol.* 2015. V. 6. P. 235.  
<https://doi.org/10.3389/fneur.2015.00235>
90. Hirbec H., Rassendren F., Audinat E. Microglia Reactivity: Heterogeneous Pathological Phenotypes // *Methods. Mol. Biol.* 2019. V. 2034. P. 41.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9658-2\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9658-2_4)
91. Horenstein A.L., Chillemi A., Zaccarello G. et al. A CD38/CD203a/CD73 ectoenzymatic pathway independent of CD39 drives a novel adenosinergic loop in human T lymphocytes // *Oncoimmunology.* 2013. V. 2. e26246.  
<https://doi.org/10.4161/onci.26246>
92. Horenstein A.L., Quarona V., Toscani D. et al. Adenosine Generated in the Bone Marrow Niche Through a CD38-Mediated Pathway Correlates with Progression of Human Myeloma // *Mol. Med.* 2016. V. 22. P. 694.  
<https://doi.org/10.2119/molmed.2016.00198>
93. Huber B.R., Meabon J.S., Hoffer Z.S. et al. Blast exposure causes dynamic microglial/macrophage responses and microdomains of brain microvessel dysfunction // *Neuroscience.* 2016. P. V. 319. 206.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.01.022>
94. Illes P., Rubini P., Ulrich H., Zhao Y., Tang Y. Regulation of Microglial Functions by Purinergic Mechanisms in the Healthy and Diseased CNS // *Cells.* 2020. V. 9. P. 1108.  
<https://doi.org/10.3390/cells9051108>
95. Jacobson K.A., Müller C.E. Medicinal chemistry of adenosine, P2Y and P2X receptors // *Neuropharmacology.* 2016. V. 104. P. 31.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.12.001>
96. Jarrahi A., Braun M., Ahluwalia M. et al. Revisiting Traumatic Brain Injury: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Interventions // *Biomedicines.* 2020. V. 8. P. 389.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines8100389>
97. Jassam Y.N., Izzy S., Whalen M., McGavern D.B., El Houry J. Neuroimmunology of Traumatic Brain Injury: Time for a Paradigm Shift // *Neuron.* 2017. V. 95. P. 1246.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.010>
98. Jeong S.Y., Jeon R., Choi Y.K. et al. Activation of microglial Toll-like receptor 3 promotes neuronal survival against cerebral ischemia // *J. Neurochem.* 2016. V. 136. P. 851.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.13441>
99. Jin W., Xu W., Chen J., Zhang X., Shi L., Ren C. Adenosine kinase facilitated astrogliosis-induced cortical neuronal death in traumatic brain injury // *J. Mol. Histol.* 2016. V. 47. P. 259.  
<https://doi.org/10.1007/s10735-016-9670-7>
100. Karasawa A., Kawate T. Structural basis for subtype-specific inhibition of the P2X7 receptor // *Elife.* 2016. V. 5. e22153.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.22153>
101. Karmakar M., Katsnelson M.A., Dubyak G.R., Pearlman E. Neutrophil P2X7 receptors mediate NLRP3 inflammasome-dependent IL-1 $\beta$  secretion in response to ATP // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 10555.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms10555>
102. Kelley N., Jeltama D., Duan Y., He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 3328.  
<https://doi.org/10.3390/ijms20133328>
103. Kempuraj D., Ahmed M.E., Selvakumar G.P. et al. Mast cell activation, neuroinflammation, and tight junction protein derangement in acute traumatic brain injury //

- Mediat. Inflamm. 2020. 2020. P. 4243953.  
<https://doi.org/10.1155/2020/4243953>
104. *Keystone E.C., Wang M.M., Layton M., Hollis S., McInnes I.B.* D1520C00001 Study Team. Clinical evaluation of the efficacy of the P2X7 purinergic receptor antagonist AZD9056 on the signs and symptoms of rheumatoid arthritis in patients with active disease despite treatment with methotrexate or sulphasalazine // *Ann. Rheum. Dis.* 2012. V. 71. P. 1630.  
<https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-143578>
  105. *Kigerl K.A., Gensel J.C., Ankeny D.P., Alexander J.K., Donnelly D.J., Popovich P.G.* Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. P. 13435.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3257-09.2009>
  106. *Kim E., Lauterbach E.C., Reeve A. et al.* Neuropsychiatric complications of traumatic brain injury: a critical review of the literature (a report by the ANPA Committee on Research) // *J. Neuropsychiatr. Clin. Neurosci.* 2007. V. 19. P. 106.  
<https://doi.org/10.1176/jnp.2007.19.2.106>
  107. *Kim S.W., Davaanyam D., Seol S.I., Lee H.K., Lee H., Lee J.K.* Adenosine Triphosphate Accumulated Following Cerebral Ischemia Induces Neutrophil Extracellular Trap Formation // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 7668.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21207668>
  108. *Kimble D.E., Shields J., Yanasak N., Vender J.R., Dhandapani K.M.* Activation of P2X7 promotes cerebral edema and neurological injury after traumatic brain injury in mice // *PLoS One.* 2012. 7. e41229.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041229>
  109. *Koizumi H., Arito M., Endo W. et al.* Effects of tofacitinib on nucleic acid metabolism in human articular chondrocytes. *Mod. Rheumatol.* 2015. V. 25. P. 522.  
<https://doi.org/10.3109/14397595.2014.995874>
  110. *Koizumi S., Ohsawa K., Inoue K., Kohsaka S.* Purinergic receptors in microglia: Functional modal shifts of microglia mediated by P2 and P1 receptors // *Glia.* 2013. V. 61. P. 47.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22358>
  111. *Kumar V.* Toll-like receptors in the pathogenesis of neuroinflammation // *J. Neuroimmunol.* 2019. V. 332. P. 16.  
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.03.012>
  112. *Latini S., Pedata F.* Adenosine in the central nervous system: release mechanisms and extracellular concentrations // *J. Neurochem.* 2001. V. 79. P. 463.  
<https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00607.x>
  113. *Lazarowski E.R.* Vesicular and conductive mechanisms of nucleotide release. *Purinergic Signal.* 2012. V. 8. P. 359.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-012-9304-9>
  114. *Li J., Ramenaden E.R., Peng J. et al.* Tumor necrosis factor  $\alpha$  mediates lipopolysaccharide-induced microglial toxicity to developing oligodendrocytes when astrocytes are present // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. P. 5321.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3995-07.2008>
  115. *Lipmann F.* *Adv. Enzymol.* 1941. V. 1. P. 99.  
<https://doi.org/10.1002/9780470122464.ch4>
  116. *Liu X., Zhao Z., Ji R. et al.* Inhibition of P2X7 receptors improves outcomes after traumatic brain injury in rats // *Purinergic Signal.* 2017. V. 13. P. 529.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-017-9579-y>
  117. *Luongo L., Guida F., Imperatore R. et al.* The A1 adenosine receptor as a new player in microglia physiology // *Glia.* 2014. V. 62. P. 122.  
<https://doi.org/10.1002/glia.22592>
  118. *Lusardi T.A.* Adenosine neuromodulation and traumatic brain injury // *Curr. Neuropharmacol.* 2009. V. 7. P. 228.  
<https://doi.org/10.2174/157015909789152137>
  119. *Markowitz C.E., Spitsin S., Zimmerman V. et al.* The treatment of multiple sclerosis with inosine // *J. Altern. Complement Med.* 2009. V. 15. P. 619.  
<https://doi.org/10.1089/acm.2008.0513>
  120. *Martinez F.O., Sica A., Mantovani A., Locati M.* Macrophage activation and polarization // *Front. Biosci.* 2008. V. 13. P. 453.  
<https://doi.org/10.2741/2692>
  121. *Matute C.* P2X7 receptors in oligodendrocytes: a novel target for neuroprotection // *Mol Neurobiol.* 2008. V. 38. P. 123.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-008-8028-x>
  122. *McInnes K., Friesen C.L., MacKenzie D.E., Westwood D.A., Boe S.G.* Mild Traumatic Brain Injury (mTBI) and chronic cognitive impairment: A scoping review // *PLoS One.* 2017. V. 12. e0174847.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174847>
  123. *Meng F., Guo Z., Hu Y. et al.* CD73-derived adenosine controls inflammation and neurodegeneration by modulating dopamine signaling // *Brain.* 2019. V. 142. P. 700.  
<https://doi.org/10.1093/brain/awy351>
  124. *Merighi S., Battistello E., Giacomelli L. et al.* Targeting A3 and A2A adenosine receptors in the fight against cancer // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2019. V. 23. P. 669–678.  
<https://doi.org/10.1080/14728222.2019.1630380>
  125. *Milior G., Morin-Brureau M., Chali F. et al.* Distinct P2Y Receptors Mediate Extension and Retraction of Microglial Processes in Epileptic and Peritumoral Human Tissue // *J. Neurosci.* 2020. V. 40. P. 1373.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0218-19.2019>
  126. *Morabito L., Montesinos M.C., Schreiber D.M. et al.* Methotrexate and sulfasalazine promote adenosine release by a mechanism that requires ecto-5'-nucleotidase-mediated conversion of adenine nucleotides // *J. Clin. Invest.* 1998. V. 101. P. 295–300.  
<https://doi.org/10.1172/JCI1554>
  127. *Morote-Garcia J.C., Rosenberger P., Kuhlicke J., Eltzschig H.K.* HIF-1-dependent repression of adenosine kinase attenuates hypoxia-induced vascular leak. *Blood.* 2008. V. 111. P. 5571.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-126763>
  128. *Morra M., Zubiaur M., Terhorst C., Sancho J., Malavasi F.* CD38 is functionally dependent on the TCR/CD3 complex in human T cells // *FASEB J.* 1998. V. 12. P. 581.  
<https://doi.org/10.1096/fasebj.12.7.581>
  129. *Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K. et al.* Macrophage activation and polarization: Nomenclature and experimental guidelines // *Immunity.* 2014. V. 41. P. 14.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.008>
  130. *Mutch C.A., Talbot J.F., Gean A.* Imaging Evaluation of Acute Traumatic Brain Injury // *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2016. V. 27. P. 409.  
<https://doi.org/10.1016/j.nec.2016.05.011>

131. *Nakajima K., Tohyama Y., Maeda S., Kohsaka S., Kurihara T.* Neuronal regulation by which microglia enhance the production of neurotrophic factors for GABAergic, catecholaminergic, and cholinergic neurons // *Neurochem Int.* 2007. V. 50. P. 807–20. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.02.006>
132. *Nedeljkovic N., Bjelobaba I., Lavrnja I. et al.* Early temporal changes in ecto-nucleotidase activity after cortical stab injury in rat // *Neurochem. Res.* 2008. V. 33. P. 873. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9529-0>
133. *Nguyen R., Fiest K.M., McChesney J. et al.* The International Incidence of Traumatic Brain Injury: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Can. J. Neurol. Sci.* 2016. V. 43. P.774. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.290>
134. *Niemelä J., Ifergan I., Yegutkin G.G., Jalkanen S., Prat A., Airas L.* IFN-beta regulates CD73 and adenosine expression at the blood-brain barrier // *Eur. J. Immunol.* 2008. V. 38. P. 2718. <https://doi.org/10.1002/eji.200838437>
135. *Nimmerjahn A., Kirchhoff F., Helmchen F.* Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma *in vivo* // *Science.* 2005. V. 308. P. 1314. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
136. *Ohsawa K., Irino Y., Nakamura Y., Akazawa C., Inoue K., Kohsaka S.* Involvement of P2X4 and P2Y12 receptors in ATP-induced microglial chemotaxis // *Glia.* 2007. V. 55. P. 604. <https://doi.org/10.1002/glia.20489>
137. *Olson J.K., Miller S.D.* Microglia initiate central nervous system innate and adaptive immune responses through multiple TLRs // *J. Immunol.* 2004. V. 173. P. 3916. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.6.3916>
138. *Palmer C., Roberts R.L., Young P.I.* Timing of neutrophil depletion influences long-term neuroprotection in neonatal rat hypoxic-ischemic brain injury // *Pediatr. Res.* 2004. V. 55. P. 549. <https://doi.org/10.1203/01>
139. *Pawson A.J., Sharman J.L., Benson H.E. et al.* The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY: an expert-driven knowledgebase of drug targets and their ligands. *Nucleic Acids Res.* 2014. 42(Database issue):D1098-106. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1143>
140. *Pedata F., Melani A., Pugliese A.M., Coppi E., Cipriani S., Traini C.* The role of ATP and adenosine in the brain under normoxic and ischemic conditions // *Purinergic Signal.* 2007. V. 3. P. 299. <https://doi.org/10.1007/s11302-007-9085-8>
141. *Pedata F., Dettori I., Coppi E. et al.* Purinergic signaling in brain ischemia // *Neuropharmacology.* 2016. V. 104. P. 105. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.11.007>
142. *Perry V.H., Nicoll J.A., Holmes C.* Microglia in neurodegenerative disease // *Nat. Rev. Neurol.* 2010. V. 6. P. 193. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.17>
143. *Quarona V., Zaccarello G., Chillemi A. et al.* CD38 and CD157: a long journey from activation markers to multifunctional molecules // *Cytometry B Clin. Cytom.* 2013. V. 84. P. 207. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21092>
144. *Relja B., Land W.G.* Damage-associated molecular patterns in trauma // *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2020. V. 46. P. 751. <https://doi.org/10.1007/s00068-019-01235-w>
145. *Robertson C.L., Bell M.J., Kochanek P.M. et al.* Increased adenosine in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children: association with severity of injury and excitotoxicity // *Crit. Care Med.* 2001. V. 29. P. 2287. <https://doi.org/10.1097/00003246-200112000-00009>
146. *Roszek K., Czarnecka J.* Is Ecto-nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase (NTPDase)-based Therapy of Central Nervous System Disorders Possible? // *Mini-Reviews Medicinal Chemistry.* 2015. V. 15. P. 5. <https://doi.org/10.2174/1389557515666150219114416>
147. *Roth T.L., Nayak D., Atanasijevic T., Koretsky A.P., Latour L.L., McGavern D.B.* Transcranial amelioration of inflammation and cell death after brain injury // *Nature.* 2014. V. 505. P. 223. <https://doi.org/10.1038/nature12808>
148. *Ruhal P., Dhingra D.* Inosine improves cognitive function and decreases aging-induced oxidative stress and neuroinflammation in aged female rats. // *Inflammopharmacology.* 2018. V. 26. P. 1317. <https://doi.org/10.1007/s10787-018-0476-y>
149. *Schilling M., Strecker J.K., Ringelstein E.B., Schäbitz W.R., Kiefer R.* The role of CC chemokine receptor 2 on microglia activation and blood-borne cell recruitment after transient focal cerebral ischemia in mice // *Brain Res.* 2009. V. 1289. P. 79. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.06.054>
150. *Schneider M., Prudic K., Pippel A. et al.* Interaction of Purinergic P2X4 and P2X7 Receptor Subunits // *Front. Pharmacol.* 2017. V. 8. P. 860. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00860>
151. *Sciotti V.M., Van Wylen D.G.* Increases in interstitial adenosine and cerebral blood flow with inhibition of adenosine kinase and adenosine deaminase // *J. Cereb. Blood. Flow Metab.* 1993. V. 13. P. 201. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1993.24>
152. *Sheth S., Brito R., Mukherjee D., Rybak L.P., Ramkumar V.* Adenosine receptors: expression, function and regulation // *Int. J. Mol. Sci.* 2014 V. 15. P. 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms15022024>
153. *Simon D.W., McGeachy M.J., Bayir H., Clark R.S., Loane D.J., Kochanek P.M.* The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury // *Nat. Rev. Neurol.* 2017. V. 13. P. 171. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.13>
154. *Sipe G., Lowery R., Tremblay M.É. et al.* Microglial P2Y12 is necessary for synaptic plasticity in mouse visual cortex // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P.10905. <https://doi.org/10.1038/ncomms10905>
155. *Solini A., Chiozzi P., Morelli A., Fellin R., Di Virgilio F.* Human primary fibroblasts *in vitro* express a purinergic P2X7 receptor coupled to ion fluxes, microvesicle formation and IL-6 release. // *J. Cell Sci.* 1999. V. 112. P. 297. PMID: :9885283
156. *Sluyter R., Dalitz J.G., Wiley J.S.* P2X7 receptor polymorphism impairs extracellular adenosine 5'-triphosphate-induced interleukin-18 release from human monocytes // *Genes Immun.* 2004. V. 5. P. 588. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364127>
157. *Sofoluwe A., Bacchetta M., Badaoui M., Kwak B.R., Chanson M.* ATP amplifies NADPH-dependent and -

- independent neutrophil extracellular trap formation // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. P.16556.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-53058-9>
158. *Sperlágh B., Vizi E.S., Wirkner K., Illes P.* P2X7 receptors in the nervous system // *Prog. Neurobiol.* 2006. V. 78. P. 327.  
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2006.03.007>
159. *Spitsin S., Hooper D.C., Leist T., Streletz L.J., Mikheeva T., Koprowskil H.* Inactivation of peroxynitrite in multiple sclerosis patients after oral administration of inosine may suggest possible approaches to therapy of the disease // *Mult. Scler.* 2001. V. 7. P. 313.  
<https://doi.org/10.1177/135245850100700507>
160. *Stock T.C., Bloom B.J., Wei N. et al.* Efficacy and safety of CE-224,535, an antagonist of P2X7 receptor, in treatment of patients with rheumatoid arthritis inadequately controlled by methotrexate // *J. Rheumatol.* 2012. V. 39. P. 720.  
<https://doi.org/10.3899/jrheum.110874>
161. *Talley Watts L., Sprague S., Zheng W. et al.* Purinergic 2Y1 receptor stimulation decreases cerebral edema and reactive gliosis in a traumatic brain injury model // *J. Neurotrauma.* 2013. V. 30. P. 55.  
<https://doi.org/10.1089/neu.2012.2488>
162. *Taruno A.* ATP release channels // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. P. 808.  
<https://doi.org/10.3390/ijms19030808>
163. *Teixeira F.C., Gutierrez J.M., Soares M.S.P. et al.* Inosine protects against impairment of memory induced by experimental model of Alzheimer disease: a nucleoside with multitarget brain actions // *Psychopharmacology (Berl).* 2020. V. 237. P. 811.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-019-05419-5>
164. *Trautmann A.* Extracellular ATP in the immune system: more than just a “danger signal” // *Sci. Signal.* 2009. V. 2. pe6.  
<https://doi.org/10.1126/scisignal.256pe6>
165. *Vazquez J.F., Clement H.W., Sommer O., Schulz E., van Calker D.* Local stimulation of the adenosine A2B receptors induces an increased release of IL-6 in mouse striatum: an in vivo microdialysis study // *J. Neurochem.* 2008. V. 105. P. 904.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05191.x>
166. *Veres G., Radovits T., Seres L., Horkay F., Karcik M., Szabó G.* Effects of inosine on reperfusion injury after cardiopulmonary bypass // *J. Cardiothorac. Surg.* 2010. V. 5. P. 106.  
<https://doi.org/10.1186/1749-8090-5-106>
167. *Vespa P., Bergsneider M., Hattori N. et al.* Metabolic crisis without brain ischemia is common after traumatic brain injury: a combined microdialysis and positron emission tomography study // *J. Cereb. Blood. Flow Metab.* 2005. V. 25. P. 763.  
<https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600073>
168. *Vincenzi F., Pasquini S., Borea P.A., Varani K.* Targeting Adenosine Receptors: A Potential Pharmacological Avenue for Acute and Chronic Pain // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 8710.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21228710>
169. *von Kügelgen I.* Pharmacological profiles of cloned mammalian P2Y-receptor subtypes // *Pharmacol. Ther.* 2006 V. 110. P. 415.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.08.014>
170. *Walker K.R., Tesco G.* Molecular mechanisms of cognitive dysfunction following traumatic brain injury // *Front Aging Neurosci.* 2013. V. 5. P. 29. doi: Mutch .  
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00029>
171. *Xiang Z., Chen M., Ping J. et al.* Microglial morphology and its transformation after challenge by extracellular ATP in vitro // *J. Neurosci. Res.* 2006. V. 83. P. 91.  
<https://doi.org/10.1002/jnr.20709>
172. *Zarrinmayeh H., Territo P.* Purinergic receptors of the Central Nervous System: Biology, PET Ligands, and Their Applications. // *Molecular Imaging.* 2020. V. 19. P. 1.  
<https://doi.org/10.1177/1536012120927609>
173. *Zhou A.M., Li W.B., Li Q.J., Liu H.Q., Feng R.F., Zhao H.G.* A short cerebral ischemic preconditioning up-regulates adenosine receptors in the hippocampal CA1 region of rats // *Neurosci. Res.* 2004. V. 48. V. 397.  
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2003.12.010>
174. *Zimmermann H.* Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000. V. 362. P. 299.  
<https://doi.org/10.1007/s002100000309>

## Purinergic Regulation of Neuroinflammation in Traumatic Brain Injury

N. B. Serebryanaya<sup>a, \*</sup>, E. E. Fomicheva<sup>a</sup>, and P. P. Yakutseni<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Experimental Medicine Ministry of Education and Science, St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University Ministry of Education and Science, St. Petersburg, Russia*

\*e-mail: nbvma@mail.ru

**Abstract**—The purinergic system is defined as a universal regulatory system that calibrates and synchronizes individual cellular responses to coordinate with the interests of the whole organism. The most important purine mediators ATP and adenosine provide positive and negative modulation of signals in the central and peripheral nervous system, immune system and other organism systems. The synthesis and release of these mediators, the rate of their enzymatic metabolism, the expression of the purinergic receptor, significantly affect the course of physiological and pathological processes, including post-traumatic ones. The review investigates the main components of the purinergic system that affect the development of neuroinflammation after traumatic brain injury and the possibility of corrective actions.

**Keywords:** traumatic brain injury, neuroinflammation, ATP, adenosine, purinergic system

УДК 612.111.11:612.23

## КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ И ГАЗОТРАНСМИТТЕР СЕРОВОДОРОД

© 2021 г. В. В. Зинчук\*

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь*

\*e-mail: zinchuk@grsmu.by

Поступила в редакцию 20.03.2020 г.

После доработки 03.05.2020 г.

Принята к публикации 30.10.2020 г.

Определяющее значение в формировании кислородтранспортной функции крови принадлежит гемоглобину. Этот аллостерический белок способен осуществлять обратимое связывание с лигандами, обуславливая изменение сродства гемоглобина к кислороду и приспособление организма к меняющимся потребностям тканей в нем. Представлены современные данные о кислородтранспортной функции крови и системе газотрансмиттеров (сероводород и монооксид азота) и их взаимосвязи. Сероводород вносит вклад в модификацию сродства гемоглобина к кислороду, что достигается через различные механизмы: образование сульфгемоглобина, модулирование внутриэритроцитарной системы, L-аргинин-NO системы, а также опосредовано через системные механизмы формирования функциональных свойств гемоглобина. На основе анализа литературных и собственных данных обсуждается значение газотрансмиттера сероводорода в формировании кислородтранспортной функции крови и развитии оксидативных повреждений и гипоксических состояний.

**Ключевые слова:** кислород, кровь, гипоксия, газотрансмиттеры, сероводород, монооксид азота

**DOI:** 10.31857/S0301179821030085

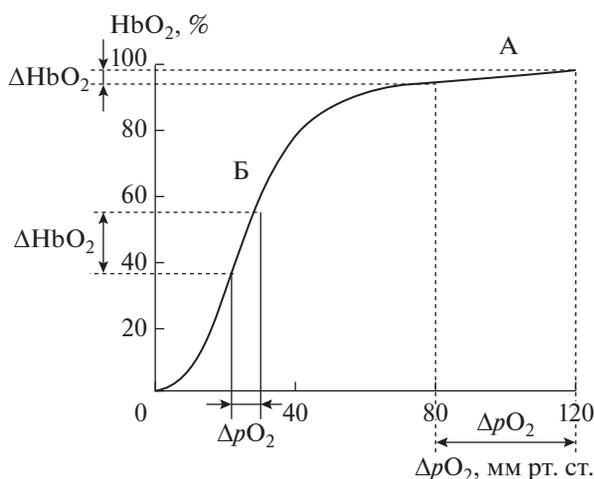
### ВВЕДЕНИЕ

Определяющее значение в формировании кислородтранспортной функции крови принадлежит гемоглобину, благодаря которому содержание кислорода в крови становится значительно выше (табл. 1). Данный глобин является временным транспортным депо для кислорода и в этом качестве обладает рядом свойств, обеспечивающих как процессы образования  $HbO_2$ , так и своевременной отдачи  $O_2$  [33]. М.Ф. Perutz подчеркивал, что “гемоглобин – это не статическое здание, а динамический механизм, не кислородноеместилище, а молекулярное легкое, изменяющее свои размеры при присоединении кислорода и его отдаче” (цитируется по [27]).

Присоединение молекулы кислорода к одному гемоглобину приводит к изменению его структуры, что обуславливает нелинейную зависимость насыщения гемоглобина кислородом от  $pO_2$  и обеспечивает достаточно высокое содержание кислорода в крови даже при значительном снижении  $pO_2$ , являясь одним из путей компенсации возникающей гипоксии [27].

Молекула гемоглобина может существовать в равновесии между оксигенированными и дезоксигенированными формами. Оксигенированную структуру именуют релаксированным (R-) состо-

янием, а оксигенированную – напряженным (T-). Субъединицы внутри данного конкретного тетрамера имеют значение сродства к  $O_2$ , определяемое четвертичной структурой молекулы: R-состояние имеет высокое сродство, а T- – низкое. Связывание с  $O_2$  разрывает электростатические связи, формируя релаксированную R-конформацию, в которой остальные связывающиеся участки молекулы гемоглобина имеют сродство к  $O_2$  в 500 раз выше, чем в T-конформации. Эти изменения ведут к кооперативности между связывающимися участками. Связывание одной молекулы  $O_2$  с дезокси-гемоглобином повышает сродство к нему остальных участков на той же молекуле (пример, как аллостерический фермент регулирует метаболический путь) [72]. Процесс связывания  $O_2$  с одной субъединицей гемоглобина влияет на взаимодействие последующих его молекул с другими субъединицами. Именно этот процесс придает кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) особую S-образную форму (рис. 1), что имеет важное физиологическое значение: обеспечивает оптимальные условия для оксигенации крови в капиллярах легкого и деоксигенации в капиллярах большого круга кровообращения. Положение КДО характеризует показатель  $p50$  ( $pO_2$ , при котором содержание оксигемоглобина



**Рис. 1.** Физиологическое значение S-образной формы кривой диссоциации оксигемоглобина: А — оксигенация крови в легких; Б — деоксигенация в капиллярах большого круга кровообращения.

равно 50%). Он, как правило, используется для сравнения функциональной способности различных гемоглобинов.

Процесс присоединения кислорода к гемоглобину является ступенчатым. Анализируя физиологическое значение вклада гемоглобина в реализацию кислородтранспортной функции крови (табл. 1) необходимо учитывать, что процессы оксигенации/деоксигенации крови протекают в основном в диапазоне  $\text{Hb}(\text{O}_2)_3 \leftrightarrow \text{Hb}(\text{O}_2)_4$  (рис. 2) и соответственно, разница в содержании в артериальной и венозной крови составляет примерно одна треть. Вследствие чего более корректно представлять процессы оксигенации/деоксигенации крови не крайнем диапазоне. Это также является резервом  $\text{O}_2$  и мобильным механизмом повышения либо ограничения его поступления в ткани, в зависимости от физиологической потребности, что может быть предметом целенаправленного воздействия на кислородтранспорт-

ную функцию крови с целью адекватности кислородного обеспечения как отдельных тканей, так и всего организма.

### МОДУЛЯТОРЫ КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ ГЕМОГЛОБИНА

Гемоглобин как аллостерический белок имеет множество участков, способных осуществлять обратимое связывание с первичным лигандом, обуславливающих четвертичные конформационные изменения (гомotropные эффекты), и их модуляция вторичными эффекторами (гетеротропные эффекты) [54, 68]. Гомотропный эффект является фундаментальным свойством гемоглобина, обеспечивающим формирование кислородтранспортной функции крови и физиологические потребности в  $\text{O}_2$  организмом [45]. Регуляция SGK и, соответственно, изменение положения КДО осуществляется за счет взаимодействия гемоглобина с  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}^+$ , органическими фосфатами и некоторыми другими модуляторами, а также факторами, влияющими на его взаимодействие с лигандами [59].

Среди различных факторов, модулирующих положение КДО, не в полной мере определено значение абсолютной температуры и ее градиентов внутри тела, проявление эффекта Бора на уровне капилляра, неоднородность популяции эритроцитов по своим кислородсвязывающим свойствам, взаимодействия гемоглобина и  $\text{NO}$ , эффекта времени прохождения эритроцитов по капилляру и др. [82]. Кислородсвязывающие свойства гемоглобина отвечают не только на изменения внешней концентрации  $\text{O}_2$ , но и на присутствие в растворе ряда других веществ. Наличие  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_2$ , органических фосфатов или  $\text{H}^+$  оказывает большое влияние на кислородтранспортную функцию гемоглобина. Большинство гемоглобинов позвоночных изменяет свои кислородсвязывающие свойства в ответ на изменения pH и других аллостерических эффекторных молекул [75].

**Таблица 1.** Значение гемоглобина в реализации кислородтранспортной функции крови

Содержание $\text{O}_2$ (мл) при концентрации гемоглобина 150 г/л	
Артериальная кровь при $p\text{O}_2 = 100$ мм рт. ст. и $\text{SO}_2 = 100\%$ содержит 20.7 мл $\text{O}_2$ в 100 мл крови	
В плазме	В эритроцитах
0.3 мл $\text{O}_2$ (1.55%)	20.4 мл $\text{O}_2$ (98.45%)
Венозная кровь при $p\text{O}_2 = 40$ мм рт. ст. и $\text{SO}_2 = 70\%$ содержит 14.6 мл $\text{O}_2$ в 100 мл крови	
В плазме	В эритроцитах
0.3 мл $\text{O}_2$ (2.05%)	14.3 мл $\text{O}_2$ (97.95%)

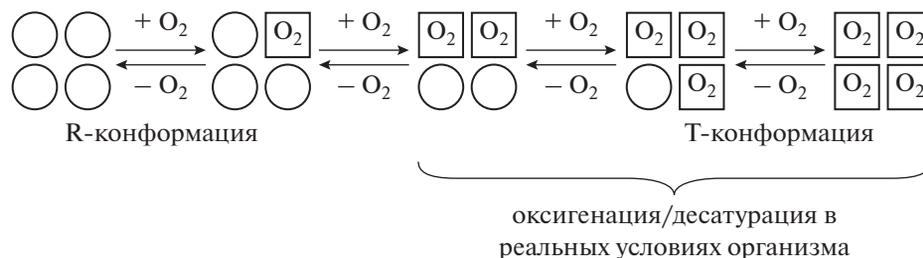


Рис. 2. Кооперативный характер деокси-/оксигенации гемоглобина.

К ключевым механизмам адаптации структуры и функции гемоглобина преимущественно относятся аминокислотные замены на участках, образующих контакты между цепями (по мере сдвига молекулы между дезокси- и окси-состоянием), или сравнительно немногих связывающих участках для эффекторов вроде  $H^+$ ,  $Cl^-$  и органических фосфатов [41].

Главными гетеротропными эффекторами гемоглобина являются  $H^+$ ,  $CO_2$  и внутриэритроцитарные органические фосфаты. Физиологическое значение последних было раскрыто в 1967 г. в работах R.E. Benesch, R. Benesch [35], в которых было показано, что 2,3-дифосфоглицерат является мощным модулятором СГК. Увеличение его концентрации приводит к смещению КДО вправо, а снижение вызывает противоположный эффект. В эритроцитах лишь 2,3-дифосфоглицерата и АТФ присутствуют в количествах достаточных, чтобы влиять на положение КДО. На их долю приходится более 90% всего количества органических фосфатов в эритроцитах [80]. Влияние 2,3-дифосфоглицерата на КДО, в сравнении с АТФ, более значительно, что обусловлено его более высокой концентрацией и более выраженным сродством к гемоглобину [40]. Количество этого органического фосфата в эритроцитах превышает

содержание АТФ в 4.5 раза и составляет около 60% всех фосфатов клетки. 2,3-дифосфоглицерат является промежуточным продуктом шунта Любинга–Раппопорта. Его внутриэритроцитарный пул контролируется ферментами 2,3-дифосфоглицерат-мутазой и 2,3-дифосфоглицерат-фосфатазой, активация первого увеличивает образование 2,3-дифосфоглицерата, второго снижает. Этот фактор осуществляет свое влияние на гемоглобин как непосредственно через аллостерический механизм, так и через изменение внутриэритроцитарной концентрации ионов  $H^+$ .

Молекулу воды рассматривают также как аллостерический эффектор. Гемоглобин А человека связывает при переходе от Т- к R-состоянию 60 молекул  $H_2O$  [92]. Изменение конформации к большему сродству, происходящий при присоединении второй молекулы  $O_2$  при высоком рН и уменьшаемый после связывания третьей молекулы при низком рН, связан со стабилизацией Т-состояния протонами.

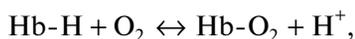
### ЭФФЕКТ БОРА

Изменение рН раствора изменяет константу диссоциации и конформацию групп, связанных с кислородом в тетрамере гемоглобина, в резуль-

Таблица 2. Характеристика газотрансмиттеров монооксида азота и сероводорода [36, 58, 74]

Свойство	Монооксид азота	Сероводород
Молярная масса, г/моль	30.01	34.08
Коэффициент диффузии, $cm^2/c^{-1} \cdot ^\circ C \times 10^{-5}$	2.07	1.75
Растворимость, г/100 г $H_2O/^\circ C$	0.0062	0.40
Синтез	Нейрональная, индуцибельная и эндотелиальная изоформы NO-синтаз	Цистотионин- $\beta$ -синтаза, цистотионин- $\gamma$ -лиаза, 3-меркаптопируват-сульфуртрансфераза
Концентрация в крови	нмоль	нмоль—мкмоль
Период полураспада	Секунды	Секунды
Механизм действия реализуется при участии	Циклический гуанозинмонофосфат	$K_{ATP}^+$ -каналы

тате чего меняется его сродство к  $O_2$ . Подкисление среды приводит к снижению СГК, подщелачивание — к увеличению. Такая зависимость СГК от рН получила название эффекта Бора. рН среды влияет на взаимодействие атома железа в молекуле гемоглобина с различными лигандами, и прежде всего, с кислородом. Исследования в этом направлении были начаты в лаборатории И.М. Сеченова, а само явление было открыто в 1898 г. Б.Ф. Вериго, белорусом по происхождению, физиологом, работавшим в то время в Одессе в Новороссийском университете и, независимо от него, в 1904 г. датским физиологом Ч. Бором. Данный эффект выражает по существу общую способность протеинов присоединять либо отдавать в среду  $H^+$  и является частным случаем проявления их буферных свойств [22]. В упрощенном виде этот феномен можно представить, как:



где  $H^+$ , высвобождаемые вследствие связывания  $O_2$ , именуется протонами Бора.

Молекулярные механизмы эффекта Бора обусловлены присоединением протонов к остаткам гистидина в  $\alpha$ -цепях, образованию солевых мостиков путем протонирования концевых остатков гистидина. Повышение концентрации протонов способствует освобождению кислорода, а повышение концентрации кислорода стимулирует высвобождение протонов [97].

Для гемоглобина человека в физиологическом диапазоне значений рН во время оксигенации высвобождается примерно 2 протона. Во время оксигенации происходит отщепление от гемоглобина протонов, которые, накапливаясь в эритроците, увеличивают его кислотность, что само по себе приводит к снижению СГК.

Такая зависимость конформации гемоглобина от концентрации протонов имеет место при рН больше 6 (щелочная область эффекта Бора), при меньших значениях рН наблюдается обратная по эффекту взаимосвязь, при которой гемоглобин при отщеплении кислорода отдает протоны (кислотная область эффекта) [97]. Данная область этого эффекта, по-видимому, не имеет самостоятельного физиологического значения в организме. Хотя у некоторых земноводных в условиях анабиоза при значительном снижении рН кислотная область эффекта Бора повышает способность гемоглобина связывать кислород, что в условиях его недостатка может быть более целесообразным. У некоторых гемоглобинов позвоночных (рыбы) наблюдалась иная зависимость между рН и СГК, получавшее название эффект Рута, что имеет значение для увеличения объема плавательного пузыря на глубине и поддержании оксигенации при низком  $pO_2$ .

Физиологическое значение эффекта Бора заключается в его влиянии на оксигенацию тканей. Сдвиг рН крови в сторону ацидоза за счет образующихся кислых метаболитов и углекислого газа благоприятствует большей десатурации крови в капиллярах [56]. В условиях истощения резервных возможностей других звеньев системы транспорта кислорода данный эффект может стать важным фактором изменения  $pO_2$  в крови и тканях [75]. Эффект Бора представляет собой саморегулирующийся механизм доставки кислорода в ткани при гипоксических условиях. Гипоксемия стимулирует вентиляцию, что повышает  $pO_2$  и рН крови и снижает  $p50$ . Если его значение становится слишком низким, нарушается доставка  $O_2$ , то возникающий тканевый ацидоз вновь повышает  $p50$  до нормальных значений. Регуляция по принципу обратной связи обеспечивается путем аллостерического контроля СГК через эффект Бора и температуру, а также хеморецепторным контролем вентиляции. Данный эффект вовлечен в развитие алкалоза при гипервентиляции и через изменение рН определяет в эритроцитах уровень органических фосфатов [57]. Этот феномен является примером молекулярной адаптации к различным условиям окружающей среды [50]. При прохождении крови через тканевые капилляры захват  $CO_2$  эритроцитами повышает  $pO_2$  при данном  $SO_2$  через эффект Бора, тем самым облегчая доставку  $O_2$  к тканям, что снижает  $pO_2$  внутри эритроцитов при данном содержании  $CO_2$ , в результате чего улучшаются условия для захвата  $CO_2$  (эффект Холдейна).

Влияние температуры на процесс связывания  $O_2$  с гемоглобином исследован *in vitro* Дж. Баркрофтом и В. Кингом еще в 1909 г. [1]. Температура выступает как регулятор функций гемоглобина в связи с тем, что оксигенация гемической группы является экзотермической реакцией (СГК уменьшается с ростом температуры), а общая энтальпия оксигенации обусловлена эндотермическим вкладом регуляторных молекул, которые преимущественно связываются с дезоксигемоглобином и модулируют связывание и отщепление  $O_2$  [67].

При существенном изменении температуры тела, как при перегревании, лихорадке, так и гипотермии, развиваются специфические изменения кислородсвязывающих свойств крови, направленные на ослабление влияния температурного фактора на СГК [99]. При гипертермии, лихорадке изменения СГК, по-видимому, обусловлены не только влиянием температуры, но и изменением значений 2,3-дифосфоглицерата, рН,  $pCO_2$  и константы эффекта Бора [2, 11]. Кроме того, в качестве модулятора температурного эффекта может быть и NO. Введение в организм крыс метилового эфира  $N^G$ -нитро-L-аргинина сдвигает КДО вправо и значительно снижает

устойчивость животных к действию высокой внешней температуры [98]. Однако при относительно небольшом изменении температуры (например, сауна, около 2°C) происходит большой рост значений  $p_{50}$  в расчете на 1°C [14], чем при состоянии выраженного перегревания (более 3.5°C). Очевидно, при относительно умеренной по силе тепловой нагрузке, в отличие от значительного перегревания или лихорадки, механизмы адаптации направлены на усиление транспорта кислорода в ткани (за счет влияния температуры на СГК), что лежит в основе позитивного эффекта контролируемых тепловых воздействий.

В условиях охлаждения организма и существенного снижения температуры тела наблюдается сдвиг КДО влево. У животных, получавших L-аргинин (исходный субстрат синтеза NO) и подвергавшихся гипотермии, отмечается наименьший сдвиг КДО влево и повышение устойчивости организма к действию холода [100]. Холодовое воздействие (снижение температуры тела до  $28.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ) характеризуется смещением КДО вправо [52]. Данные модуляторы через механизмы обратной связи позволяют оптимизировать процессы транспорта  $O_2$  путем соответствующих изменений СГК. Эти факторы образуют систему, которая осуществляет с учетом скоростей биохимических реакций относительно быстрые адаптивные изменения свойств крови в ответ на внешние возмущения.

### ЗНАЧЕНИЕ СРОДСТВА ГЕМОГЛОБИНА К КИСЛОРОДУ ДЛЯ ТРАНСПОРТА $O_2$

Согласно классическим представлениям, уменьшение СГК, сдвиг КДО вправо повышает отдачу кровью кислорода тканям. При гемической гипоксии сдвиг КДО вправо, вызванный усилением синтеза 2,3-дифосфоглицерата в эритроцитах ( $\Delta p_{50} - 2.5$  мм рт. ст.), увеличивает количество поступающего в ткани кислорода на 15% [7]. В исследованиях на поросятах с применением инозингексафосфата, увеличивавшего  $p_{50}$  на 20%, потребление кислорода возрастает по сравнению с контролем с 4.3 до 6 мл/мин [43]. В опытах на крысах при повышении  $p_{50}$  на 25% наблюдается возрастание тканевого  $pO_2$  в среднем на 78% [60]. В хронических экспериментах на собаках увеличение  $p_{50}$  с 31 до 38.8 мм рт. ст. при обработке инозитгексафосфатом не приводит к росту потребления кислорода на фоне снижения сердечного выброса [66]. Наблюдается увеличение  $pO_2$  в тканях и потребления  $O_2$  у хомячков после 80% замены объема циркулирующей крови искусственным кровезаменителем, содержащим полимеризованный гемоглобин с более высоким значением  $p_{50}$  (54.2 мм рт. ст.) [38]. Пребывание добровольцев в условиях, подобных Эвересту ( $pO_2 - 282$  мм рт. ст.) в течение 42 суток увеличи-

вает значение  $p_{50_{\text{станд}}}$  с 28.2 до 33.1 мм рт. ст., что приводит к уменьшению  $SO_2$  в артериальной и венозной крови на 8.4 и 17.4% соответственно, но увеличивает экстракцию  $O_2$  на 7.9% [88]. Применение аллостерического регулятора СГК миоинозитол трифосфата, дозозависимо увеличивавшего  $p_{50}$  на 22 и 37% при дозах 1 и 2 г/кг, повышает способность к выполнению физических нагрузок на  $57 \pm 13$  ( $p = 0.002$ ) у обычных и  $63 \pm 7\%$  ( $p = 0.005$ ) у трансгенных мышей с тяжелой сердечной недостаточностью при максимальном изменении СГК [37].

В то же время есть данные о том, что снижение СГК не всегда обладает явным эффектом по улучшению оксигенации тканей. Использование модификатора СГК, сдвигающего КДО вправо ( $p_{50} = 16.9 \pm 3.5$  и  $40.4 \pm 1.7$  при температуре 30.0 и 37.5°C соответственно) не уменьшает размеры возникающего инфаркта при ишемии головного мозга крыс при гипотермии [89]. Сдвиг КДО вправо ( $p_{50}$  возрастает с  $36.6 \pm 0.3$  до  $48.3 \pm 0.6$  мм рт. ст.) не приводит к существенному улучшению тканевого метаболизма в условиях глубокой анемии [46]. В тоже время его использование при гипотермической кардиоплегии улучшает восстановление механической и метаболической функции миокарда, снижает проявление окислительного стресса [61]. Снижение СГК до начала моделирования субдуральной гематомы у крыс в нормоксических и гипероксических условиях снижает уровень 2,3-дигидроксibenзойной кислоты, образуемой из салицилата после обработки ОН\* в сравнении с контролем, но данный эффект не отмечался при модификации СГК в постишемический период [44]. Максимальный подъем  $p_{50}$  не обеспечивает снижение кратковременной очаговой ишемии мозга у крыс [83].

Уменьшение СГК, являющееся наиболее важным фактором компенсации кислородной недостаточности при различных патологических состояниях, лежит в основе процессов адаптации к гипоксии. По-видимому, увеличение  $p_{50}$  выше физиологических значений благоприятствует оптимальному транспорту кислорода к тканям преимущественно в условиях нормоксии или умеренной гипоксии. Трактовка проблемы физиологического значения сдвига КДО влево для оксигенации тканей окончательно не выяснена, несмотря на большее число исследований. Известно, что повышение СГК затрудняет десатурацию крови в микроциркулярном русле.

На изолированной *m. gastrocnemius* собак *in situ*, перфузированной нормальной кровью или обработанной цианатом натрия ( $p_{50} = 32.1$  и 23.2 мм рт. ст. соответственно), наблюдается снижение поступления кислорода в ткань на 17% [53]. У собак с  $p_{50} = 23$  мм рт. ст. (в контроле 32) при незначительных различиях конвективного транспорта

кислорода отмечается значительно меньшее потребление кислорода тканью миокарда [32]. Сдвиг КДО влево вследствие карбоксилирования (уровень карбоксигемоглобина 12%) снижает поступление кислорода в ткани с 70 до 52% [78]. При перфузии изолированной *m. gracilis* собак высокоаффинной к кислороду кровью в условиях субмаксимальных нагрузок показана меньшая, чем при перфузии нормальной кровью, доставка кислорода в ткани, не компенсируемая усилением кровотока [64]. При перфузии изолированного сердца кролика растворами гемоглобина с значением  $p_{50}$  12 (в контроле 30 мм рт. ст.) потребление кислорода тканями снижается на 36% [70]. Доставка кислорода в ткани из циркулирующей крови при операциях на сердце с  $p_{50}$  31.1 и 20.3 мм рт. ст. уменьшается на 30% [69]. В опытах по моделированию СГК (путем использования инозитолгексофосфата и 5 гидроксиметил-2-фурфура, изменяющих  $p_{50}$  от 10 до 50 мм рт. ст.) наблюдается несоответствие между тканевым  $pO_2$  и его потреблением и доставкой в ткани в условиях острой анемии [38].

Однако сдвиг КДО влево может иметь благоприятный эффект для организма. Так, у бодрствующих хомяков после геморрагического шока использование кровезаменителя с гемоглобином, модифицированным полиэтиленгликолем ( $p_{50} = 5.5$  мм рт. ст.) улучшает кровоток и микроциркуляцию [93]. Ишемия головного мозга у низкорезистентных к ней крыс линии Вистар, вызванная окклюзией общих сонных артерий, в острейшем периоде повышает СГК в среднем на 12% относительно нормальных значений, так же, как и эмоциональный стресс, определяя последующее развитие ишемии головного мозга: прирост до 25% обеспечивает его дальнейшее повышение, а свыше 25% – значительное снижение в результате деоксигенации гемоглобина [24]. Трансфузия рекомбинантного полимерного гемоглобина с низким  $p_{50}$  (3 и 18 мм рт. ст.) уменьшает объем поражения при экспериментальном инсульте [63]. Использование гемоглобина, инкапсулированного в липосомы с высоким ( $p_{50} = 10$  мм рт. ст.) и низким ( $p_{50} = 45$  мм рт. ст.) СГК оказывает защитный эффект при развитии инсульта, создаваемого у крыс, но действие первого было более выраженным (в большей степени уменьшает размеры инфаркта в коре и базальных ганглиях) [48].

Оценка кислородного снабжения скелетной мышцы на модели Крога показывает, что при увеличении  $p_{50}$  с 26 до 39 мм рт. ст. потребление  $O_2$  возрастает на 7 и 1% при  $pO_2$  в атмосфере 39 и 53 мм рт. ст. соответственно, а при уменьшении  $p_{50}$  до 20.8 мм рт. ст. в условиях гипоксии (при  $pO_2 = 40$  мм рт. ст.) – возрастает на 51% [71]. У хомяков с повышенным СГК ( $p_{50} = 15.7$  мм рт. ст.) при значительной гемодилуции (снижение гема-

токрита на 40%) и гипоксической гипоксии наблюдается менее выраженное нарушение доставки кислорода, чем при нормальном СГК ( $p_{50} = 26.1$  мм рт. ст.) [84]. Согласно данным этих исследователей, повышенное СГК не дает очевидных преимуществ для транспорта кислорода на уровне капиллярной сети в попеременно-полосатых мышцах, однако оно может стать очевидным при повышенной скорости метаболизма или более тяжелой гипоксии. У крыс с повышенным СГК (за счет использования NaOCN  $p_{50}$  изменялся с 30 до 24 мм рт. ст.) отмечался более высокий коэффициент экстракции  $O_2$  в условиях гипоксии, а в гипероксической среде – меньшая скорость метаболизма, меньшее значение  $pO_2$  венозной крови и снижение показателей центральной гемодинамики, что, возможно, обусловлено адаптивными реакциями, развивающимися при длительной тканевой гипоксии [86].

Механизмы транспорта кислорода кровью играют важную роль в развитии кислороддефицитных состояний при сосудистой патологии. У пациентов со стабильной стенокардией напряжения СГК снижается: показатель  $p_{50_{станд}}$  увеличивается на 9.7% при II функциональном классе, но было на 14.1% ( $p < 0.001$ ) ниже, чем при – I классе [13], что следует расценивать как компенсаторную реакцию на гипоксию в тканях, возникшую из-за недостаточности коронарного кровотока. Происходящий сдвиг КДО вправо способствует лучшей деоксигенации крови и, очевидно, оптимизации кислородного режима тканей. У пациентов с артериальной гипертензией, под влиянием небиволола (препарата, изменяющего состояние L-аргинин-NO системы)  $p_{50_{реал}}$  увеличивается на 9.2% ( $p < 0.05$ ),  $p_{50_{станд}}$  – на 8.3% ( $p < 0.05$ ), т.е. отмечается нормализующее влияние данного препарата на СГК [79]. При стабильной стенокардии напряжения III функционального класса, протекавшей с артериальной гипертензией, СГК снижается, тесно коррелируя с эндотелийзависимой вазодилатацией [31].

В этом плане заслуживают внимания данные о использовании ряда фармакологических средств для коррекции КТФ крови. Их действие реализуется через автономную внутриэритроцитарную систему регуляции кислородсвязывающих свойств крови, которые выступают в качестве важного модификатора функциональных свойств гемоглобина. Так, использование эритропоэтина, мелатонина перед холодовым воздействием и последующим отогреванием приводит к улучшению транспорта кислорода в ткани, степень снижения КДО вправо уменьшается [52]. Выявлено, что лозартан в концентрации 250 нг/мл достоверно повышает СГК ( $p_{50}$  снижается с  $30.2 \pm 0.5$  в контроле до  $27.8 \pm 0.7$  мм рт. ст.) [4]. В опытах *in vitro* небиволол увеличивал значения  $p_{50}$  при реальных зна-

чениях рН и рСО<sub>2</sub> на  $4.3 \pm 0.8$  ( $p < 0.05$ ) мм рт. ст. при самой низкой концентрации, а последующее 2-х и 3-х кратное увеличение его концентрации повышает его величину на  $7.5 \pm 1.1$  ( $p < 0.01$ ) и  $10.6 \pm 0.7$  ( $p < 0.01$ ) мм рт. ст. соответственно, что отражает дозозависимый характер его действия [15].

Смещение КДО влево при выраженной гипоксической гипоксии улучшает транспорт кислорода в ткани организма. Данный сдвиг следует рассматривать как адаптивную реакцию организма к физическим нагрузкам в условиях кислородной недостаточности. Такая значимость изменения СГК отражает необходимость организма приспосабливаться к постоянно меняющимся потребностям тканей в кислороде, степенью развивающейся гипоксии и выраженностью реакции адаптации к ней.

Однако в ряде случаев этот подход механистически переносят на условия целостного организма. В организме в условиях гипоксии доставка О<sub>2</sub> в ткани осуществляется путем изменения тонких механизмов регуляции СГК, даже малые сдвиги которого способны максимально увеличить артериовенозную разницу по О<sub>2</sub> и оптимизировать его транспорт в ткани, поддерживая относительно низкую нагрузку на гемодинамику [82]. Выявлен определенный физиологический диапазон, в рамках которого СГК играет адаптационную антиоксидантную роль при острой ишемии головного мозга, границы последнего зависят от индивидуальной резистентности (выход за верхнюю границу этого диапазона является одним из патогенетических факторов развития осложнений после перенесенного эмоционального или другого стресса, ведущих к летальности от ишемии мозга) [24]. Показана эффективность основанных на гемоглобине носителей кислорода со сниженным р50 (повышенным сродством к О<sub>2</sub>) как средств направленной доставки О<sub>2</sub> в ишемизированную ткань, что дает основание для разработки и оптимизации носителей О<sub>2</sub>, и предполагает возможное использование гемоглобина для коррекций различных гипоксий [81].

Сдвиг КДО вправо при снижении рО<sub>2</sub> в крови можно расценивать как попытку организма компенсировать кислородную недостаточность, но в условиях окислительного стресса, когда нарушена утилизация кислорода тканями и значительная его часть используется в оксигеназных реакциях, ведущих к образованию активных форм кислорода, это приводит к активации процессов свободнорадикального окисления [21]. Увеличение р50 способствует росту потока кислорода в ткани в условиях нормоксии или умеренной гипоксии, в тоже время его уменьшение может иметь благоприятное значение, обладая антиоксидантным эффектом в условиях нарушенной утилизации кислорода тканями.

## ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ

Проблема формирования кислородсвязывающих свойств крови в последние годы приобрела новый аспект, а именно вклад в этот процесс различных газотрансммиттеров. Наши представления о роли этих веществ в формировании кислородсвязывающих свойств крови, в развитии оксидативных повреждений пока еще достаточно фрагментарны. Приходится констатировать, что до сих пор не сложилось целостного представления о механизмах, при участии которых газотрансммиттеры оказывают регулирующее влияние на отдельные компоненты различных функциональных систем, и в частности кислородтранспортной функции крови в обычных условиях жизнедеятельности организма и при развитии оксидативных повреждений.

Газообразные газотрансммиттеры представляют собой особую группу газообразных молекул, осуществляющих межклеточную и внутриклеточную регуляцию организации различных функций организма [30, 73]. К данным газотрансммиттерам относят монооксид азота, сероводород и монооксид углерода. Сравнительная характеристика монооксид азота и сероводорода представлена в табл. 2. В отличие от классических мессенджеров, передающих сигнал по каскадному принципу, газотрансммиттеры осуществляют модификацию внутриклеточных протеинов. Их физиологическое значение не ограничивается регуляцией функций сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, но и распространяется также на другие системы, образуя единый комплекс газовых посредников, легко проникающих через мембрану и регулирующих многочисленные процессы клетки [26].

Ранее нами было показано участие монооксида азота (NO) в регуляции кислородсвязывающих свойств крови в сосудистом компартменте [9, 12]. Предполагается, что NO транспортируется кровью в качестве третьего дыхательного газа и вызывает вазодилатацию по взаимосвязанному с кислородом (аллостерически) механизму [51]. В результате взаимодействия NO и гемоглобина происходит образование его различных форм, которые играют роль своеобразного аллостерического регулятора функциональной активности данного протеина на уровне отдельных его тетрамеров. Инкубация крови с нитрозоцистеином в условиях оксигенации приводит к левостороннему сдвигу КДО [85]. Инкубирование венозной крови с пероксинитритом повышает СГК, отмечается снижение величины р50<sub>реал</sub> на  $4.5 \pm 1.6$  мм рт. ст. ( $p < 0.05$ ) [18], что может иметь значение для формирования функциональных свойств гемоглобина, формирования потока О<sub>2</sub> в ткани и поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме. В ходе одного

цикла движения эритроцита в сосудистой системе происходят последовательные реакции гемоглобина с NO, модулирующие его структурные переходы из R- в T-состояние [10], что на уровне капилляров малого круга кровообращения может быть дополнительным механизмом, способствующим оксигенации крови, а на уровне микроциркуляции большого круга – оптимизирующим десатурацию крови, и, соответственно, доставку кислорода в ткани.

Газотрансмиттеры (монооксид азота наряду с сероводородом и монооксидом углерода) обладают уникальными физико-химическими свойствами и проявляют свою активность посредством механизмов, отличающихся от других сигнальных молекул. Знание молекулярных мишеней действия газотрансмиттеров, структуры центров их связывания и особенностей взаимодействия может иметь существенное значение при разработке способов регуляции этих сигнальных систем при помощи фармакологических средств [6]. Представляется целесообразным проанализировать вклад такого газотрансмиттера, как H<sub>2</sub>S в формирование кислородсвязывающих свойств крови.

### СЕРОВОДОРОД

В организме H<sub>2</sub>S синтезируется из L-цистеина через ферментативный и неферментативный пути. Первый осуществляется за счет специальных цитозольных пиридоксаль-5'-фосфат-зависимых ферментов (цистотионин-β-синтазы и цистотионин-γ-лиазы), а также – зависимо от Zn<sup>2+</sup> фермента 3-меркаптопируват-сульфуртрансферазы, локализованного как в цитоплазме, так и в митохондриях [55]. Эти ферменты выявлены в клетках печени, почки, поджелудочной железы. В клетках нервной системы обнаружен только фермент цистотионин-β-синтаза, а в кровеносных сосудах синтез H<sub>2</sub>S осуществляет преимущественно цистотионин-γ-лиаза [90].

H<sub>2</sub>S является представителем несинаптического способа межклеточной коммуникации, основанного на диффузии молекул неорганических соединений по межклеточному пространству во всех направлениях и действии на отдаленные от места их образования несинаптические рецепторы [23]. В физиологическом диапазоне pH H<sub>2</sub>S существует в виде HS<sup>-</sup> (70–80%), S<sup>2-</sup> и самой малой фракции, растворимой в плазме в форме газа [42]. Его содержание в различных тканях колеблется в диапазоне 20–200 мкмоль, а в крови, в частности, 10–50 мкмоль [58].

Эта субстанция обладает широким спектром физиологических эффектов на различные системы организма: ЦНС, дыхание, кровообращение, пищеварение и т.д. Сероводород играет важную роль в процессах внутриклеточного метаболизма

и осуществлении контроля над фундаментальными клеточными процессами: регуляции нервной (процессы нейронной передачи сигнала), сердечно-сосудистой (расслабление гладких мышц), иммунной (противовоспалительный и цитопротекторный агент), сенсорной, пищеварительной систем, а также в метаболизме различных органов [23]. Газовые трансмиттеры модулируют образование генов белков-регуляторов апоптоза семейства Bcl-2, снижая экспрессию антиапоптотических молекул [25]. Сероводород обеспечивает значительную защиту от апоптоза кардиомиоцитов путем подавления активации каспазы-3 и повышения экспрессии гликоген-синтазы киназы-3β. Он участвует в механизмах гемостаза, обладая антикоагулянтным эффектом, в отличие от CO, который может быть, как коагулянтом, так и прокоагулянтом [76].

АТФ-зависимые калиевые каналы являются основной мишенью H<sub>2</sub>S в клетке. Эта молекула путем открытия данных каналов в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов вызывает их дилатацию. Активация K<sub>АТФ</sub><sup>+</sup>-каналов и инактивация потенциалзависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов L-типа, обуславливает снижение концентрации внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> с развитием гиперполяризации мембраны гладкомышечных клеток сосудов и их релаксацию [34]. Также возможна эндотелийзависимая H<sub>2</sub>S-индуцированная вазорелаксация, непосредственно не связанная с механизмом K<sub>АТФ</sub><sup>+</sup>-каналов [74]. Сероводород является важной регуляторной молекулой, которая модулирует функцию гладкомышечных клеток, оказывая не только релаксирующее действие, но и констрикторное действие, обусловленное активацией малыми концентрациями H<sub>2</sub>S трансмембранного ионного обменника Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup>-котранспорта, который тесно связан с объем-зависимыми механизмами регуляции сократительной активности [28]. Исследование взаимодействия газотрансмиттеров может помочь в понимании интегральных механизмов регуляции сосудистого тонуса и других процессов организма [6].

### МОНООКСИД АЗОТА И СЕРОВОДОРОД

Неоднозначно мнение о роли внутриклеточных сигнальных каскадов в механизмах действия NO и H<sub>2</sub>S. Взаимодействие NO и H<sub>2</sub>S-опосредованных сигнальных систем может происходить через нитрозилирование свободных SH-групп в составе цистотионин-γ-лиазы, а также через активацию протеин-киназы G [6]. Взаимодействие NO и H<sub>2</sub>S реализуется через различные механизмы, а именно NO увеличивает: экспрессию фермента цистотионин-γ-лиазы, но ингибирует его активность, клеточное высвобождение цистеина,

ведет к образованию новых молекул S-нитрозо-тиолов, а также  $H_2S$  при ацидозе индуцирует образование NO из нитритов и других NO-derivатов [91].

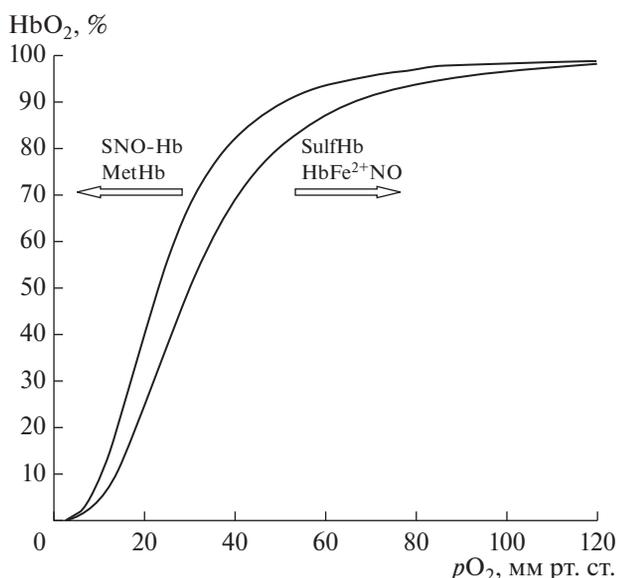
Взаимодействие NO и  $H_2S$  имеет значение для развития окислительного стресса. Как известно,  $H_2S$  уменьшает окислительные повреждения при дисфункции эндотелия, выступая как “ловушка” супероксид аниона и снижая его продукцию НАДФН-оксидазой [74]. В регуляции нитрозативных повреждений ДНК, индуцирующих активацию регулона SoxRS, молекулы NO и  $H_2S$  могут функционировать согласованно, взаимодополняя друг друга [3].  $H_2S$  как газообразная молекула достаточно легко диффундирует через клеточную мембрану. Она реагирует с пероксинитритом с образованием  $HSNO$  и сульфинилнитритом [ $HS(0)NO$ ], за счет чего снижаются негативные эффекты пероксинитрита и достигается цитопротективный эффект при различных видах окислительного стресса [47].  $H_2S$  уменьшает уровень свободных радикалов через усиление механизмов антиоксидантной защиты, а также действует как их ловушка [91]. Этот газотрансмиттер регулирует активность ряда антиоксидантных ферментов (каталаза, СОД, глутатион пероксидаза, глутатион трансфераза). Однократная инфузия донора  $H_2S$  (гидросульфида натрия) за 5 мин до реперфузии печени снижает уровень конечных продуктов процессов перекисного окисления липидов и повышает уровень ряда антиоксидантов печени, активность трансаминаз крови в конце реперфузионного периода [29]. При геморрагическом шоке введение донора  $H_2S$  (гидросульфид натрия) в условиях ишемии–реперфузии обладает благоприятным эффектом, обусловленным снижением продукции супероксид аниона и NO (за счет уменьшения экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы) [49].

Отдельного внимания заслуживает вопрос взаимодействия NO- и  $H_2S$ -зависимых сигнальных путей между собой и детальное изучение их механизмов взаимодействия, определение “точек пересечения”, порядок их последовательности взаимодействия друг с другом, что позволит более глубоко понять механизмы регуляции функции органов и систем [6]. Данные газомодуляторы, взаимодействуя между собой, образуют сложную систему, управляющую интеграционными процессами организма. Многие физиологические эффекты  $H_2S$  обусловлены его взаимодействием с другими газообразными посредниками (NO, СО), осуществляемым как на уровне регуляции ферментов синтеза, так и мишеней их действия, поэтому предлагается рассматривать газомедиаторы не по отдельности, а как союз молекул, регулирующих клеточные процессы.

## СЕРОВОДОРОД И КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ

Катаболизм сероводорода достаточно сложен. Время полураспада невелико (составляет секунды). Он окисляется дисульфидными группами липидов до сульфата и тиосульфата. В физиологических условиях сероводород быстро утилизируется в организме через путь митохондриального окисления (основной путь элиминации) с образованием сульфатов или через путь цитозольного метилирования с участием фермента S-метилтрансферазы [62]. Данная субстанция может непосредственно связываться с метгемоглобином, образуя сульфгемоглобин. В обычных условиях содержание сульфгемоглобина относительно невелико, но при некоторых патологических состояниях, при лечении препаратами фенацетин, метоклопрамид и другие, его значение существенно растет и при концентрации 60 и более % ведет к тканевой гипоксии и летальному исходу. Предполагается, что гемоглобин участвует в поддержании уровня  $H_2S$  в сосудистой системе [36]. Гемоглобин играет важную роль в факультативном окислении  $H_2S$ , в результате чего образуется тиосульфат и гидросульфид [87]. Также возможно окисление  $H_2S$  при участии метгемоглобина [65]. Совместно с NO-производными гемоглобина, сульфгемоглобин может изменять положение КДО (рис. 3). Метгемоглобин и нитрозогемоглобин повышают СГК, а нитрозилгемоглобин и сульфгемоглобин его снижают, соответственно первые смещают КДО влево, а последние – вправо. Взаимодействие NO и  $H_2S$  может иметь значение для формирования кислородного обеспечения организма. Одной из мишеней данных газообразных посредников является гемоглобин.

Установлено повышение продукции  $H_2S$  в эритроцитах при синкопальных состояниях у детей ( $32.9 \pm 12.5$  в сравнении с контролем  $15.0 \pm 4.0$  нмоль/мин/ $10^8$  эр,  $p < 0.018$ ), линейно коррелирующее с величиной эндотелийзависимой вазодилатации [95]. Выявлено повышенное содержание  $H_2S$  в эритроцитах при синдроме постуральной ортостатической тахикардии, концентрация которого может быть предиктором эффективности проводимой терапии [94]. Для постуральной ортостатической тахикардии и синкопа характерно повышенное содержание  $H_2S$  в плазме ( $109.3 \pm 2.1$  и  $95.3 \pm 3.8$  нмоль/мин/ $10^8$  эр в сравнении со здоровыми), что предлагается использовать для дифференциального диагноза этой патологии [96]. Хотя следует понимать, что его содержание не является специфическим критерием для постановки диагноза при патологиях, сопровождающихся ростом его содержания.



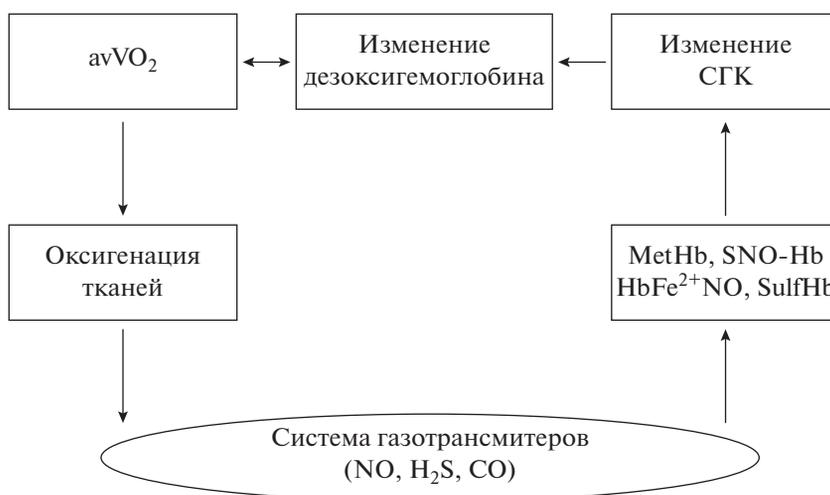
**Рис. 3.** Эффект газотрансмиттеров на положение кривой диссоциации оксигемоглобина: MetHb – метгемоглобин, SNO-Hb – нитрозогемоглобин;  $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$  – нитрозилгемоглобин, SulfHb – сульфгемоглобин.

Метаболизм сероводорода является частью кислородсенсорного механизма: в обычных условиях  $\text{H}_2\text{S}$  окисляется в митохондриях до сульфита, при гипоксии его утилизация уменьшается, в связи с чем возрастает вклад в гипоксический ответ [77]. Очевидно, модификация гемоглобина за счет взаимодействия с молекулой  $\text{H}_2\text{S}$  участвует в формировании оптимального кислородного режима. Среди различных факторов внутриэритроцитарной системы регуляции кислородсвязывающих свойств крови, наряду с pH, 2,3-дифосфоглицератом, модуляторами свойств гемоглобина

являются система газотрансмиттеров, и в частности  $\text{H}_2\text{S}$  (рис. 4).

В наших исследованиях показано, что L-аргинин-NO система оказывает модулирующее действие на кислородтранспортную функцию крови при различных состояниях, сопровождающихся развитием гипоксии. Введение L-аргинина и нитроглицерина при действии магнитного поля приводит к уменьшению SGK, которое отсутствует при введении неселективного ингибитора фермента NO-синтазы (N-нитро-L-аргинин метилэфира) и сопровождается повышением концентрации нитрат/нитритов и сероводорода [16]. Облучение магнитным полем хвостовой артерии крыс и введение гидросульфида натрия или аминокислоты L-аргинин в течение 10 сут обуславливает уменьшению SGK и сопровождается повышением содержания газотрансмиттеров (нитрат/нитритов и сероводорода) в крови, а при введении ингибиторов синтеза NO (N-нитро-L-аргинин метилэфир) и синтеза  $\text{H}_2\text{S}$  (цистатионин- $\gamma$ -лиазы D,L-пропаргилглицина) эффект магнитного поля на SGK не проявляется [17]. Показан эффект газотрансмиттеров на кислородсвязывающие свойства крови и редокс-статус при введении липополисахарида [19]. Мелатонин, уменьшая дисбаланс в функционировании системы газотрансмиттеров, способствует адаптивным изменениям КТФ крови и уменьшению окислительного стресса [20].

Эти эффекты реализуются через различные кратко- и долгосрочные уровни регуляции эритроцитарных и системных механизмов. В их обеспечении также участвуют и  $\text{H}_2\text{S}$ -продуцирующие структуры. Пересечение на тех или иных уровнях NO- и  $\text{H}_2\text{S}$ -зависимых сигнальных каскадов может приводить как к взаимному активированию, так и к ингибированию этих сигнальных систем,



**Рис. 4.** Вклад газотрансмиттеров в внутриэритроцитарную систему регуляции сродства гемоглобина к кислороду.

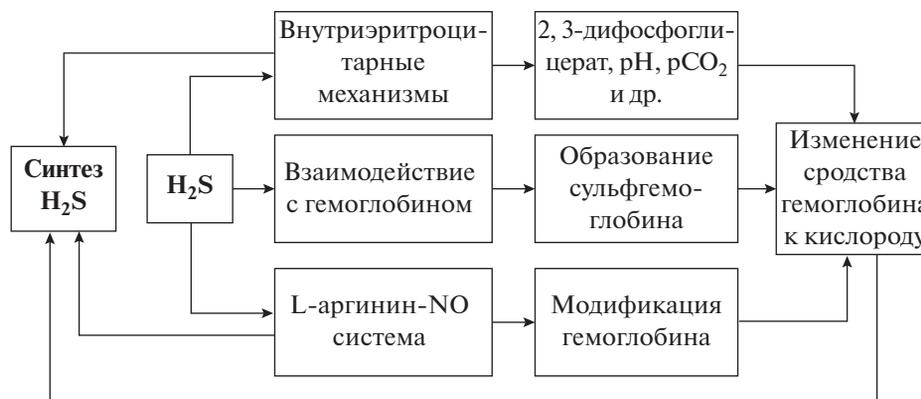


Рис. 5. Основные механизмы реализации эффекта сероводорода на сродство гемоглобина к кислороду.

в результате чего может быть вариативность физиологических реакций со стороны отдельных клеток, органов и систем [6]. Модулирующее действие газообразных посредников, участвующих в обмене классических медиаторов, обеспечивает многообразные функции — от управления локальной регуляцией интенсивности местного кровотока до сложных каскадных процессов формирования функциональных свойств гемопротеидов. Эффекты данных эндогенных газов-посредников на систему транспорта кислорода реализуются не только через регулирование гемодинамического компонента данной системы, но и через формирование кислородтранспортной функции крови.

Газотрансмиттеры вовлечены во внутри- и межклеточную коммуникацию с высокой специфичностью во многих клетках, тканях и органах, так как они хорошо растворимы в липидах, легко проходят через клеточные и субклеточные мембраны [6]. В системе кровообращения эндотелий является основным источником NO и CO (связываемых в гладких мышечных элементах сосудов с гемосодержащей группой растворимой гуанилатциклазы, в результате чего происходит активация этого фермента, накопление цГМФ, расслабление сосудов), а H<sub>2</sub>S продуцируется в основном в гладких мышцах сосудов, в адипоцитах и эритроцитах [74]. Эти посредники играют важную роль в центральных и периферических механизмах регуляции процессов транспорта кислорода, образуя единую систему, синергически взаимодополняя друг друга, обеспечивая в конечном итоге достижение положительного приспособительного результата.

Взаимодействие NO с гемоглобином вносит свой вклад в развитие адаптивных и дезадаптивных реакций при стрессе, снижение биоактивности NO и гипоксии. Это в определенной степени относится и к другим газотрансмиттерам, в частности, сероводороду. В исследованиях при дисфункции эндотелия различного генеза отмеча-

лось изменение кислородтранспортной функции крови и содержание таких газотрансмиттеров, как NO, H<sub>2</sub>S. При хронической обструктивной болезни легких сдвиг КДО вправо сопровождается однонаправленным ростом содержания нитрат/нитритов и уровня сероводорода [8]. Ее сдвиг вправо также отмечался у пациентов с инфарктом миокарда в сочетании с метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2-го типа в период 25–60-е сутки, степень выраженности которого коррелирует с содержанием этих газотрансмиттеров, отражая степень дисфункции эндотелия при этой патологии [5].

Несомненно, газотрансмиттер сероводород участвует в модификации SGK, что достигается через различные механизмы: образование различных дериватов гемоглобина (сульфгемоглобин), модулирование внутриэритроцитарной системы формирования кислородсвязывающих свойств крови, L-аргинин-NO системы, а также опосредовано через системные механизмы формирования функциональных свойств гемоглобина (рис. 5). Нарушения кислородтранспортной функции крови может способствовать потере согласованности функционирования антиоксидантной системы, вызывая прооксидантно-антиоксидантный дисбаланс и развитие окислительного стресса.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных, собственных экспериментальных и клинических результатов исследований указывают, что не только монооксид азота, но и сероводород выполняют роль аллостерических эффекторов в отношении гемоглобина, изменяя его сродство к кислороду и определяя состояние кислородтранспортной функции крови. Предполагается участие газотрансмиттера сероводорода в формировании функциональных свойств гемоглобина путем модификации его сродства к кислороду через системные и регионарные, внутриэритроцитарные

механизмы регуляции, что имеет значение в патогенезе гипоксических состояний, дисфункции эндотелия, окислительного стресса организма и особенно для их коррекции.

Эффективность работы системы транспорта кислорода определяется функциональным состоянием крови, ее способностью связывать необходимое количество кислорода в легких и отдавать его в тканевых капиллярах. Вследствие развития гипоксии происходят сложные изменения на всех этапах процессов транспорта кислорода. Механизмы транспорта кислорода кровью являются важнейшими мишенью эффектов NO и H<sub>2</sub>S. Нарушение газотрансмиттеробразующей функции приводят к снижению адекватного обеспечения кровотоком тканевых потребностей в кислороде, развитию оксидативных повреждений и гипоксических состояний.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баркрофт Дж. Основные черты архитектуры физиологических функций. М., Л.: Биомедизд, 1937. 240 с.
2. Борисюк М.В., Зинчук В.В. Состояние кислородтранспортной функции крови при гипертермии у кроликов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1989. Т. CVII. № 6. С. 652.
3. Васильева С.В., Стрельцова Д.А. Взаимодействие мессенджеров – “газотрансмиттеров” NO и H<sub>2</sub>S в сигнальных и регуляторных процессах бактериальной клетки // Докл. Акад. наук. 2015. Т. 461. № 5. С. 599.
4. Гацура С.В., Зинчук Д.В. Влияние эналаприла и лозартана на размеры экспериментального инфаркта миокарда, сродство гемоглобина к кислороду и некоторые показатели перекисного окисления липидов // Эксп. и клин. фарм. 2004. Т. 67. № 1. С. 19.
5. Глуткина Н.В., Пырошкин В.М. Газотрансмиттеры и механизмы транспорта кислорода кровью при инфаркте миокарда и сахарном диабете 2-го типа // Кислород и свободные радикалы: сборник материалов Международной научно-практической конференции. Гродно: ГрГМУ. 2016. С. 28.
6. Гусакова С.В., Смаглий Л.В., Бирулина Ю.Г. и др. Молекулярные механизмы действия газотрансмиттеров NO, CO и HS в гладкомышечных клетках и влияние NO-генерирующих соединений (нитратов и нитритов) на среднюю продолжительность жизни // Усп. физиол. наук. 2017. Т. 48. № 1. С. 24.
7. Дмитриева М.Г., Карпова И.В., Пивник А.В. и др. Роль гемоглобина в адаптации к гипоксии больных железodefицитной анемией // Гематол. и трансфузиол. 1994. Т. 39. № 1. С. 13.
8. Добродей М.А., Зинчук В.В., Глуткина Н.В., Шейфер Ю.А. Кислородтранспортная функция крови, уровень газотрансмиттеров и прооксидантно-антиоксидантное состояние при хронической obstructивной болезни легких // Журн. ГрГМУ. 2016. № 2. С. 5.
9. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислород-связывающих свойств гемоглобина // Усп. физиол. наук. 2003. Т. 34. № 2. С. 33.
10. Зинчук В.В. Дисфункция эндотелия и кислород-связывающие свойства гемоглобина // Кардиология. 2009. Т. 49. № 7–8. С. 81.
11. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Эффект ингибирования NO-синтазы на кислородтранспортную функцию крови при лихорадке у кроликов // Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. 1997. Т. 83. № 4. С. 111.
12. Зинчук В.В., Глуткина Н.В. Кислородсвязывающие свойства крови и монооксид азота // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2013. Т. 99. № 5. С. 537.
13. Зинчук В.В., Добродей М.А., Лис М.А. Особенности кислородтранспортной функции крови у больных стенокардией в условиях коррекции L-аргинин-NO системы // Физиол. человека. 2008. Т. 34. № 2. С. 136.
14. Зинчук В.Вю, Жадько Д.Д. Эффект сауны на кислородтранспортную функцию крови и прооксидантно-антиоксидантный баланс у нетренированных лиц // Физиол. человека. 2012. Т. 38. № 5. С. 112.
15. Зинчук В.В., Зинчук Н.В. Влияние небиволола на кислородтранспортную функцию крови // Эксперим. и клин. фарм. 2007. Т. 70. № 1. С. 44.
16. Зинчук В.В., Лепеев В.О., Гуляй И.Э. Участие газотрансмиттеров в модификации кислородтранспортной функции крови при действии магнитного поля // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2016. Т. 102. № 10. С. 1176.
17. Зинчук В.В., Лепеев В.О. Влияние магнитного поля на кислородтранспортную функцию крови при введении донора сероводорода // Физиол. журнал. 2017. Т. 63. № 4. С. 30.
18. Зинчук В.В., Стенуро Т.Л. Эффект пероксинитрита на сродство гемоглобина к кислороду *in vitro* // Биофизика. 2006. Т. 131. № 1. С. 32-38.
19. Зинчук В.В., Фираго М.Э., Гуляй И.Э. Эффект газотрансмиттеров на кислородсвязывающие свойства крови и редокс-статус при введении липополисахарида // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2017. Т. 99. № 8. С. 890.
20. Зинчук В.В., Фираго М.Э. Участие мелатонина в регуляции кислородтранспортной функции крови при окислительном стрессе, вызванном введением липополисахарида // Биомед. хим. 2017. Т. 63. № 6. С. 89.
21. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени // Усп. физиол. наук. 2006. Т. 34. № 4. С. 45.
22. Иржак Л.И. Гемоглобины и их свойства. М.: Наука, 1975. 240 с.
23. Колесников С.И., Власов Б.Я., Колесникова Л.И. Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей // Вестник РАМН. 2015. Т. 70. № 2. С. 237.

24. *Конорова И.Л., Новиков В.Э., Ганнушкина И.В.* Влияние эмоционального стресса на сродство гемоглобина к кислороду у низкорезистентных к нему животных в норме и при ишемии головного мозга // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. 2007. Т. 144. № 10. С. 376.
25. *Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Старикова Е.Г., Таширева Л.А.* Регуляция апоптоза клеток с использованием газовых трансмиттеров оксида азота, монооксида углерода и сульфид водорода // Вестник науки Сибири. 2011. Т. 1. № 1. С. 635.
26. *Реутов В.П., Охотин В.Е., Шуклин А.В. и др.* Оксид азота и цикл NO в миокарде: молекулярные, биохимические и физиологические аспекты // Усп. физиол. наук. 2007. Т. 38. № 4. С. 39.
27. *Рябов Г.А.* Гипоксия критических состояний. М.: Медицина, 1988. 232 с.
28. *Смаглий Л.В., Гусакова С.В., Бирулина Ю.Г., Ковалев И.В., Орлов С.Н.* Роль сероводорода в объем-зависимых механизмах регуляции сократительной активности гладкомышечных клеток сосудов // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 4. С. 441.
29. *Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., Гуляй И.Э.* Влияние донора сероводорода на параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса при ишемии-реперфузии печени у крыс // Эксп. и клин. фарм. 2017. Т. 80. № 5. С. 22.
30. *Черток В.М., Коцюба А.Е.* Регуляция функций яичников: участие газовых трансмиттеров NO, CO, H<sub>2</sub>S // Усп. физиол. наук. 2015. Т. 46. № 4. С. 74.
31. *Янковская Л.В., Зинчук В.В., Лис М.А.* Кислород-транспортная функция крови и дисфункция эндотелия у больных со стенокардией и артериальной гипертензией // Кардиология. 2007. Т. 47. № 4. С. 22.
32. *Baer R.W.* Increased oxyhemoglobin affinity by carbamylation: coronary autoregulation and O<sub>2</sub> transport // Am. J. Physiol. 1992. V. 263. № 3. Pt. 2. H691.
33. *Balaban D.Y., Duffin J., Preiss D. et al.* The in vivo oxyhaemoglobin dissociation curve at sea level and high altitude // Respir. Physiol. Neurobiol. 2013. V. 186. № 1. P. 45.
34. *Barr L.A., Calvert J.W.* Discoveries of Hydrogen Sulfide as a Novel Cardiovascular Therapeutic // Circ. J. 2014. V. 78. P. 2111.
35. *Benesch R.E., Benesch R.* The effect of organic phosphates from the human erythrocytes on the allosteric properties of hemoglobin // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1967. V. 26. P. 162.
36. *Bilska-Wilkosz A., Iciek M., Girny M., Kowalczyk-Pachel D.* The Role of Hemoproteins: Hemoglobin, Myoglobin and Neuroglobin in Endogenous Thiosulfate Production Processes // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 6. P. 1315.
37. *Biolo A., Greferath R., Siwik D.A. et al.* Enhanced exercise capacity in mice with severe heart failure treated with an allosteric effector of hemoglobin, myo-inositol trispyrophosphate // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. № 6. P. 1926.
38. *Cabrales P., Tsai A.G., Intaglietta M.* Increased tissue P<sub>O<sub>2</sub></sub> and decreased O<sub>2</sub> delivery and consumption after 80% exchange transfusion with polymerized hemoglobin // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2004. V. 287. H2825.
39. *Cabrales P., Tsai A.G., Intaglietta M.* Isovolemic exchange transfusion with increasing concentrations of low oxygen affinity hemoglobin solution limits oxygen delivery due to vasoconstriction // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2008. V. 295. № 5. H2212.
40. *Chowdhury A., Dasgupta R.* Effects of acute hypoxic exposure on oxygen affinity of human red blood cells // Appl. Opt. 2017. V. 56. № 3. P. 439-445.
41. *Clerbaux T., Detry B., Geubel A. et al.* The oxyhemoglobin dissociation curve in liver cirrhosis // Chest. 2006. V. 129. № 2. P. 438.
42. *Cortese-Krott M.M., Fernandez B.O., Kelm M., Butler A.R.* On the chemical biology of the nitrite/sulfide interaction // Nitric Oxide. 2015. V. 46. P. 14.
43. *Deleuze P.H., Bailleul C., Shiya N. et al.* Enhanced O<sub>2</sub> transportation during cardiopulmonary bypass in piglets by the use of inositol hexaphosphate loaded red blood cells // Int. J. Artif. Organs. 1992. V. 15. № 4. P. 239.
44. *Doppenberg E.M., Rice M.R., Alessandri B. et al.* Reducing hemoglobin oxygen affinity does not increase hydroxyl radicals after acute subdural hematoma in the rat // J. Neurotrauma. 1999. V. 16. № 2. P. 123.
45. *Dufu K., Yalcin O., Ao-Ieong E.S. et al.* GBT1118, a potent allosteric modifier of hemoglobin oxygen affinity increases tolerance to severe hypoxia in mice // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2017. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00772.2016>
46. *Eichelbronner O., D'Almeida M., Sielenkamper A. et al.* Increasing p50 does not improve Do<sub>2crit</sub> or systemic Vo<sub>2</sub> in severe anemia // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2002. V. 283. H92.
47. *Filipovic M.R., Miljkovic J., Allgauer A. et al.* Biochemical insight into physiological effects of H<sub>2</sub>S: reaction with peroxynitrite and formation of a new nitric oxide donor, sulfanyl nitrite // Biochem. J. 2012. V. 441. № 2. P. 609.
48. *Fukumoto D., Kawaguchi A.T., Haida M. et al.* Liposome-encapsulated hemoglobin reduces the size of cerebral infarction in rats: effect of oxygen affinity // Artif. Organs. 2009. V. 33. № 2. P. 159.
49. *Ganster F., Burban M., de la Bourdonnaye M. et al.* Effects of hydrogen sulfide on hemodynamics, inflammatory response and oxidative stress during resuscitated hemorrhagic shock in rats // Crit. Care. 2010. V. 14. № 5. R165.
50. *Giardina B., Mosca D., De Rosa M.C.* The Bohr effect of haemoglobin in vertebrates: an example of molecular adaptation to different physiological requirements // Acta. Physiol. Scand. 2004. V. 182. № 3. P. 229.
51. *Gow A.J., Luchsinger B.P., Pawloski J.R. et al.* The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. № 16. P. 9027.
52. *Hlutkin S., Zinchuk V.* Effect of melatonin on the blood oxygen transport during hypothermia and re-warming in rats // Adv. Med. Sci. 2008. V. 53. № 2. P. 234.

53. Hogan M.C., Bebout D.E., Wagner P.D. Effect of increased Hb-O<sub>2</sub> affinity on VO<sub>2</sub>max at constant O<sub>2</sub> delivery in dog muscle in situ // *J. Appl. Physiol.* 1991. V. 70. № 6. P. 2656.
54. Hsia C.C.W. Mechanisms of disease: Respiratory function of hemoglobin // *New England Journal of Medicine.* 1998. V. 338. № 4. P. 239.
55. Huang B., Chen C.T., Chen C.S. et al. Laminar shear flow increases hydrogen sulfide and activates a nitric oxide producing signaling cascade in endothelial cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. V. 464. № 4. P. 1254.
56. Jensen B., Storz J.F., Fago A. Bohr effect and temperature sensitivity of hemoglobins from highland and lowland deer mice // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2016. V. 195. P. 10.
57. Jensen F.B. Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> transport // *Acta. Physiol. Scand.* 2004. V. 182. № 3. P. 215.
58. Kajimura M., Fukuda R., Bateman R.M. et al. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H<sub>2</sub>S gas biology // *Antioxid. Redox. Signal.* 2010. V. 13. № 2. P. 157.
59. Kassa T.W., Zhang N., Palmer A.F., Matthews J.S. Design, synthesis, and activity of 2,3-diphosphoglycerate analogs as allosteric modulators of hemoglobin O<sub>2</sub> affinity // *Artif. Cells. Nanomed. Biotechnol.* 2013. V. 41. № 2. P. 109.
60. Khandelwal S.R., Randad R.S., Lin P.S. et al. Enhanced oxygenation in vivo by allosteric inhibitors of hemoglobin saturation // *Am. J. Physiol.* 1993. V. 265. № 4. Pt. 2. P. H1450.
61. Kilgore K.S., Shwartz C.F., Gallagher M.A. et al. RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, improves myocardial recovery following hypothermic cardiopulmonary bypass // *Circulation.* 1999. V. 100. № 19. P. II351.
62. Kimura H. Metabolic turnover of hydrogen sulfide // *Frontiers in Physiology.* 2012  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00101>
63. Koehler R.C., Fronticelli C., Bucci E. Insensitivity of cerebral oxygen transport to oxygen affinity of hemoglobin-based oxygen carriers // *Biochim. Biophys. Acta.* 2008. V. 1784. № 10. P. 1387.
64. Kohzuki H., Enoki Y., Sakata S. et al. High affinity of blood for oxygen reduces oxygen uptake in contracting canine gracilis muscle // *Exp. Physiol.* 1994. V. 79. № 1. P. 71.
65. Kolluru G.K., Prasai P.K., Kaskas A.M. et al. Oxygen tension, H<sub>2</sub>S, and NO bioavailability: is there an interaction? // *J. Appl. Physiol.* 2016. V. 120. № 2. P. 263.
66. Liard J.F., Kunert M.P. Hemodynamic changes induced by low blood oxygen affinity in dogs // *Am. J. Physiol.* 1993. V. 264. № 2. P. 396.
67. Lilly L.E., Bonaventura J., Lipnick M.S., Block B.A. Effect of temperature acclimation on red blood cell oxygen affinity in Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) and yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) // *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 2015. V. 181. P. 36.
68. Mairbaur H., Weber Roy E. Oxygen Transport by Hemoglobin // *Physiological. Society. Compr. Physiol.* 2012. V. 2. P. 1463.
69. Matsuzaki K., Takano H., Tokunaga K. et al. Clinical application of phosphoenolpyruvate to autologous transfusion of patients with open heart surgery // *Fukuoka Igaku Zasshi.* 1993. V. 84. № 1. P. 7.
70. McDonald V.W., Winslow R.M. Oxygen delivery and myocardial function in rabbit hearts perfused with cell-free hemoglobin // *J. Appl. Physiol.* 1992. V. 72. № 2. P. 476.
71. McGuire B.J., Secomb T.W. Theoretical predictions of maximal oxygen consumption in hypoxia: effects of transport limitations // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2004. V. 143. № 1. P. 87.
72. Miele A.E., Bellelli A., Brunori M. Hemoglobin allostery: new views on old players // *J. Mol. Biol.* 2013. V. 425. № 9. P. 1515.
73. Mistry R.K., Brewer A.C. Redox regulation of gaso-transmission in the vascular system: A focus on angiogenesis // *Free. Radic. Biol. Med.* 2017. V. 108. P. 500.
74. Nagpure B.V., Bian J.S. Interaction of Hydrogen Sulfide with Nitric Oxide in the Cardiovascular System // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. 6904327.  
<https://doi.org/10.1155/2016/6904327>
75. Okonjo K.O. Bohr effect of native and chemically modified hemoglobins: Quantitative analyses based on the Wyman equation // *Biophys. Chem.* 2017. V. 226. P. 34.
76. Olas B. Gasomediators (NO, CO, and H<sub>2</sub>S) and their role in hemostasis and thrombosis // *Clin. Chim. Acta.* 2015. V. 445. P. 115.
77. Olson K.R. Hydrogen sulfide and oxygen sensing: implications in cardiorespiratory control // *J. Exp. Biol.* 2008. V. 211. P. 2727.
78. Overgaard J., Nielsen J.E., Grau C. Effect of carboxy-hemoglobin on tumor oxygen unloading capacity in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1992. V. 22. № 3. P. 407.
79. Pronko T.P., Zinchuk V.V. Effect of nebulolol on blood oxygen transport indices and endothelial dysfunction in patients with arterial hypertension // *Clin. Physiol. Funct. Imaging.* 2009. V. 29. № 3. P. 170.
80. Revsbech I.G., Malte H., Frbert O. et al. Decrease in the red cell cofactor 2,3-diphosphoglycerate increases hemoglobin oxygen affinity in the hibernating brown bear *Ursus arctos* // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013. V. 304. № 1. R43.
81. Sakai H., Cabrales P., Tsai A.G. et al. Oxygen release from low and normal p50 Hb vesicles in transiently occluded arterioles of the hamster window model // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2005. V. 288. H2897.
82. Samaja M., Crespi N., Guazzi M., Vandegriff K.D. Oxygen transport in blood at high altitude: role of the hemoglobin-oxygen affinity and impact of the phenomena related to hemoglobin allostery and red cell function // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2003. V. 90. P. 351.
83. Sarraf-Yazdi S., Sheng H., Grocott H.P. et al. Effects of RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, alone and in combination with dizocilpine, on outcome

- from transient focal cerebral ischemia in the rat // *Brain. Res.* 1999. V. 826. № 2. P. 172.
84. *Stein J.C., Ellsworth M.L.* Capillary oxygen transport during severe hypoxia: role of hemoglobin oxygen affinity // *J. Appl. Physiol.* 1993. V. 75. № 4. P. 1601.
  85. *Stepuro T.L., Zinchuk V.V.* Nitric oxide effect on the hemoglobin-oxygen affinity // *Journal Physiol. & Pharmacol.* 2006. V. 57. № 1. P. 29.
  86. *Taki J, Masuda Y, Hayashi F, Fukuda Y.* Increased cardiovascular and metabolic tolerance to acute hypoxia in the rat with increased hemoglobin-O<sub>2</sub> affinity induced by Na-cyanate treatment // *Jpn. J. Physiol.* 1999. V. 49. № 3. P. 257.
  87. *Vitvitsky V., Yadav P.K., Kurthen A., Banerjee R.* Sulfide oxidation by a noncanonical pathway in red blood cells generates thiosulfate and polysulfides // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 13. P. 8310.
  88. *Wagner P.D., Wagner H.E., Groves B.M. et al.* Hemoglobin p50 during a simulated ascent of Mt. Everest, Operation Everest II // *High. Alt. Med. Biol.* 2007. V. 8. № 1. P. 32.
  89. *Wainwright M.S., Sheng H., Sato Y. et al.* Pharmacological correction of hypothermic p50 shift does not alter outcome from focal cerebral ischemia in rats // *Am J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2002. V. 282. H1863.
  90. *Wallace J.L., Ianaro A., Flannigan K.L., Cirino G.* Gaseous mediators in resolution of inflammation // *Semin. Immunol.* 2015. V. 27. № 3. P. 227.
  91. *Wang R., Szabo C., Ichinose F. et al.* The role of H<sub>2</sub>S bioavailability in endothelial dysfunction // *Trends. Pharmacol. Sci.* 2015. V. 36. № 9. P. 568.
  92. *Weber R.E., Fago A.* Functional adaptation and its molecular basis in vertebrate hemoglobins, neuroglobins and cytoglobins // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2004. V. 144. № (2–3). P. 141.
  93. *Wettstein R., Tsai A.G., Winslow R.M., Intaglietta M.* Resuscitation with polyethylene glycol-modified human hemoglobin improves microcirculatory blood flow and tissue oxygenation after hemorrhagic shock in awake hamsters // *Crit. Care. Med.* 2003. V. 31. № 6. P. 1824.
  94. *Yang J., Li H., Ochs T., Zhao J. et al.* Erythrocytic hydrogen sulfide production is increased in children with vasovagal syncope // *J. Pediatr.* 2015. V. 166. № 4. P. 965.
  95. *Yang J., Zhao J., Du S. et al.* Postural orthostatic tachycardia syndrome with increased erythrocytic hydrogen sulfide and response to midodrine hydrochloride // *J. Pediatr.* 2013. V. 163. № 4. P. 1169.
  96. *Zhang F., Li X., Stella C. et al.* Plasma hydrogen sulfide in differential diagnosis between vasovagal syncope and postural orthostatic tachycardia syndrome in children // *J. Pediatr.* 2012. V. 160. № 2. P. 227.
  97. *Zheng G., Schaefer M., Karplus M.* Hemoglobin Bohr effects: atomic origin of the histidine residue contributions // *Biochemistry.* 2013. V. 52. № 47. P. 8539.
  98. *Zinchuk V., Borisiuk V.* The effect of NO synthase inhibition on blood oxygen-carrying function during hyperthermia in rats // *Respiration Physiology.* 1998. V. 113. № 1. P. 39.
  99. *Zinchuk V.* Effect of NO-synthase inhibition on hemoglobin-oxygen affinity and lipid peroxidation in rabbits during fever // *Respiration.* 1999. V. 66. № 5. P. 448.
  100. *Zinchuk V.V., Dorokhina L.V.* Blood oxygen transport in rats under hypothermia combined with modification of the L-arginine-NO pathway // *Nitric Oxide.* 2002. V. 6. № 1. P. 29.

## Oxygen Transport Functions of Blood and Hydrogen Sulfide Gazotransmitter

V. V. Zinchuk\*

*Medical University, Grodno, Belarus*

\*e-mail: zinchuk@grsmu.by

**Abstract**—The determining factor in the formation of the oxygen transport function of blood belongs to hemoglobin. This allosteric protein is capable of reversible binding to ligands, causing a change in the affinity of hemoglobin for oxygen and adapting the organism to the changing needs of the tissues in it. Presented are modern data on the oxygen transport function of blood and the system of gastransmitters (hydrogen sulphide and nitrogen monoxide) and their interrelations. Hydrogen sulphide contributes to the modification of the affinity of hemoglobin to oxygen, which is achieved through various mechanisms: the formation of sulfhemoglobin, the modulation of the intra-erythrocyte system, the L-arginine-NO system, and also mediated through systemic mechanisms of the formation of the functional properties of hemoglobin. Based on the analysis of literary and proprietary data, the importance of the hydrogen sulfide gas transporter in the formation of the oxygen transport function of the blood and the development of oxidative damage and hypoxic conditions are discussed.

**Keywords:** oxygen, blood, hypoxia, gas transferers, hydrogen sulphide, nitrogen monoxide

УДК 612.821

## ОДИН ФЕНОМЕН С МНОЖЕСТВОМ ИНТЕРПРЕТАЦИЙ: АСИММЕТРИЯ ЛОБНОГО АЛЬФА-РИТМА ЭЭГ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ. ЧАСТЬ I.

© 2021 г. М. Е. Мельников\*

*Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,  
Институт молекулярной биологии и биофизики, Новосибирск, Россия*

*\*e-mail: mikhail-melnikov@mail.ru*

Поступила в редакцию 15.12.2020 г.

После доработки 20.12.2020 г.

Принята к публикации 21.12.2020 г.

Асимметрия лобного альфа-ритма ЭЭГ как индекс сравнительной активности левой и правой префронтальной коры — важный биомаркер, характеризующий состояние эмоциональной и мотивационной сферы человека. В обзоре обозначаются методические аспекты получения сигнала и его надежность, а также кратко обсуждаются системные отношения внутри префронтальной коры, а также префронтальной коры с миндалиной, гиппокампом, поясной извилиной и корой островка. Рассматриваются эволюционные корни асимметрии префронтальной коры, ее наследуемость, ассоциации с эндокринными и иммунными показателями. Сформулированы основные подходы к интерпретации параметра, показана связь результатов исследований в этой области и психологических теорий эмоций и мотивации.

**Ключевые слова:** электроэнцефалография (ЭЭГ), альфа-ритм, межполушарная асимметрия, эмоции, мотивация, префронтальная кора

**DOI:** 10.31857/S0301179821030036

### ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на долгую историю изучения травматических поражений мозга у людей и лабораторных животных, старт линии исследований, оформивших современное понимание эмоциональных и мотивационных функций префронтальной коры, был дан в 1979 году докладом Ричарда Дэвидсона. В работе были продемонстрированы различия в балансе лево- и правополушарной активности на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) при восприятии эмоционально позитивных и негативных стимулов, в особенности в лобных долях [53]. В последующих исследованиях показано, что преимущественно правополушарный ЭЭГ-ответ в альфа-диапазоне при восприятии счастливой мимики наблюдается у младенцев уже к 10 месяцам, и этот феномен распространяется только на лобные отведения [48]. В серии работ испытуемые в эмоционально позитивных ситуациях или при позитивной стимуляции демонстрировали смещение мощности альфа-волн ЭЭГ, записанной над лобной долей, вправо, а в негативном контексте — влево. К 2004 году, когда функциональная магнитнорезонансная томография (фМРТ) еще не заняла доминирующих позиций в изучении эмоций, уже был создан внушительный

корпус исследований функциональной роли асимметрии ЭЭГ в лобных отведениях, и эти исследования, к тому же, были сравнительно непротиворечиво интерпретированы и концептуализированы [6].

Параллельно формировалось представление о том, что асимметрия лобного альфа-ритма (АЛАР), записанная в состоянии покоя, может отражать большую склонность конкретного человека к позитивным или негативным эмоциональным реакциям, то есть, в конечном счете, определенные черты личности. Так, в серии исследований продемонстрированы связи АЛАР и темперамента у детей с первого года жизни [63, 64, 103, 163]. У взрослых людей высокие оценки депрессивной симптоматики были ассоциированы с преимущественно левополушарным распределением лобного альфа-ритма, а низкая выраженность депрессии — с симметричной топографией альфа-ритма [161]. Позже было показано, что индикатором депрессии может быть длительность участков записи ЭЭГ, в которых отмечается лево- или правополушарная АЛАР [11]. Изучение АЛАР как биомаркера психических расстройств, в первую очередь, депрессии — обширная тема, которой данный обзор не коснется. Однако стоит

сказать, что корпус индексированной в PubMed литературы по этой теме исчисляется сотнями единиц. Логичным продолжением данной линии были исследования влияния фармакологических и нефармакологических интервенций на АЛАР, а также разработка нейротерапевтических техник, непосредственно нацеленных на латерализованное изменение активности префронтальной коры с помощью микрополяризации, транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС) и нейробиоуправления.

Концептуализация АЛАР за 40 лет существования индекса существенно изменилась. Исходно АЛАР рассматривалась как индикатор позитивных или негативных эмоциональных реакций, однако серия работ, посвященных эмоции гнева [83, 87], показала ограничения этой модели. Альтернативным и наиболее подтвержденным подходом является взгляд на АЛАР как отражающую мотивационную направленность приближения к подкрепляющим стимулам или избегания аверсивных стимулов (например, [8, 39, 123, 128]). В отдельных работах [193] оценивалась возможность того, что АЛАР зависит от сочетания мотивационной направленности и эмоциональной валентности, но этот взгляд не был популярным и не получил серьезного эмпирического подтверждения. Наконец, АЛАР рассматривалась в качестве субстрата мотивационных систем Дж. Грэя: активации поведения, подавления поведения или борьбы/бегства/замирания [108, 193]. Однако эти связи, действительно воспроизведенные в ряде исследований, могут быть вторичными по отношению к мотивационной направленности.

Тем не менее, ряд исследователей указывают на нерешенные принципиальные вопросы, существующие в этой области. Во-первых, акцентируется необходимость максимально полного понимания нейробиологических процессов, формирующих АЛАР, и их места в общем контексте эмоциональной и мотивационной систем мозга [24, 173], поскольку вся подкорковая и важнейшая часть корковой эмоциональной системы не вносят прямого вклада в АЛАР [46]. Во-вторых, оценка АЛАР не является заменой исследования эмоциональной сферы или способом валидизировать результаты психологических методик, а должна быть соотнесена как с результатами субъективных тестов [154], так и с данными физиологических измерений, ассоциированных с эмоциональными переменными: иммунными, гормональными, интенсивностью рефлексов и др. [36, 45]. В-третьих, психологические конструкторы, связываемые с АЛАР, слабо операционализированы [36, 45]. Например, практически не разграничиваются между собой поведение избегания, активное уклонение и подавление реакций [87]. Недостаточно разработан соответствующий психометрический аппарат, чтобы дифференцировать

реакции тревоги от острого страха, а импульсивность – от чувствительности к вознаграждениям [171].

Четвертое замечание относится к корректному планированию эксперимента, выбору статистических процедур и интерпретации результатов в зависимости от гипотезы. АЛАР может рассматриваться как коррелят эмоциональных/мотивационных переменных, независимая группирующая переменная, зависимая переменная, медиатор или модератор [24, 154, 173, 193]. В случаях, когда исследуются отношения опосредования и модерации, особую роль приобретает конкретная задача. Состояние покоя связано с большей вариативностью результатов, в то время как четко поставленная задача способствует их единообразию [154]. Davidson, Irwin [49] особо предостерегают против рассмотрения процедур наблюдения и индукции эмоций как активирующих один и тот же нервный субстрат.

Несмотря на редкость непосредственного включения изменений АЛАР в модели в качестве медиатора, существующие исследования показывают ее роль в опосредовании эмоциональных ответов на те или иные стимулы. Признание за АЛАР качества медиатора косвенно указывало бы на то, что префронтальная кора латерализованно облегчает или подавляет те или иные эмоциональные реакции [29]. АЛАР может быть модератором эмоциональных реакций, а у детей – модератором отношений между эмоциями и поведением и между эмоциями значимого взрослого и ребенка [154]. Роль АЛАР как модератора эмоциональных реакций соответствует видению этого индекса Р. Дэвидсоном как предрасположенности к определенному типу эмоциональных/мотивационных ответов. В отношении выявления каузальных отношений лобной асимметрии альфа-ритма и эмоциональных переменных продуктивным подходом могут быть техники манипулирования АЛАР, минуя индукцию эмоциональных и мотивационных состояний [24, 108], например, протоколы ТМС или нейробиоуправления.

Таким образом, АЛАР на уровне индивидуальной психики ассоциирована (прямо или косвенно) с переживаемыми и наблюдаемыми эмоциями, стилем эмоциональной регуляции и копинг-поведением, силой и направленностью мотивации, выраженностью внутренних мотивационных конфликтов, темпераментом, предрасположенностью к ряду психических расстройств и ответом на их профилактику и лечение. Ниже мы рассмотрим методику регистрации АЛАР, а также ее современную физиологическую и эволюционную интерпретацию. При этом определенное внимание будет уделено приведенным выше методологическим вопросам.

## НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СМЫСЛ АСИММЕТРИИ ЛОБНОГО АЛЬФА-РИТМА

Интерпретация АЛАР основывается на представлении об альфа-ритме как индикаторе “выключения” корковых областей, сигналы которых фиксируются на ЭЭГ. Сопряженность альфа-ритма с корковой пассивностью подтверждается рядом исследований [5, 148], в особенности проведенных в последние 20 лет с использованием сочетания позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и ЭЭГ [5] и фМРТ-ЭЭГ [68, 118]. Так, наиболее выраженные отрицательные корреляции с метаболической активностью по данным ПЭТ образует мощность ЭЭГ в альфа-1-диапазоне [135]. Мощность в альфа-полосе в различных отведениях обратно связана с сигналом лобных долей на фМРТ-изображениях [68, 118]. В контексте АЛАР еще более интересно, что правополушарное доминирование альфа-ритма при ожидании вознаграждения сопутствует левосторонней активации префронтальной и орбитофронтальной коры согласно фМРТ [70]. АЛАР и асимметрия лобной метаболической активности по данным функциональной инфракрасной спектроскопии демонстрируют сильную отрицательную связь [14]. Сопряженность мощности в быстрых поддиапазонах альфа-ритма с когнитивной деятельностью, на первый взгляд, противоречащая гипотезе корковой пассивности, может быть объяснена торможением ненужных когнитивных процессов, что увеличивает экономичность и эффективность работы мозга [16].

Несмотря на описанные выше результаты и обширные данные о блокировании альфа-ритма при получении сенсорной стимуляции [5], существуют различные взгляды на функциональную роль альфа-ритма. Альфа-ритм и другие медленные ритмы могут отражать синхронизацию удаленных областей мозга внутри лобно-теменной функциональной сети, поддерживающей селективность внимания [73, 129]. Синхронизация альфа-ритма в некоторых случаях возникает в задачах с конфликтными условиями и, вероятно, отражает восходящие и нисходящие взаимодействия внутри исполнительной системы [109]. Согласно Grimshaw, Carmel [73], АЛАР указывает на баланс активности левой и правой исполнительных систем, отфильтровывающих негативные и позитивные стимулы, которые нерелевантны работе высших когнитивных систем. Заметим, что фактически эта модель не уходит до конца от концепции альфа-ритма как индикатора корковой пассивности. Следует также учитывать, что соотношение активности/пассивности, воплощенное в АЛАР, не исчерпывает возможностей оценки асимметрии специализации как устойчивой склонности структуры в одном из полушарий к обработке того или иного типа информации. Та-

кая специализация может проявляться, например, в разнице скоростных характеристик обработки стимулов [41].

То, что альфа-ритм в исследованиях АЛАР фиксируется в небольшом количестве пар электродов в проекции префронтальной коры, не означает, что префронтальная кора “производит” эмоции. Префронтальные области вовлечены в сложную систему контроля эмоций и мотивации наряду с миндалинами, передней поясной извилиной, базальными ганглиями и гиппокампом. Состав этой системы приблизительно повторяет выявленный в недавнем масштабном мета-анализе нейровизуализационных исследований [122].

Миндалины больше всего подходят на роль структур, запускающих эмоциональные реакции. Эти области связаны с авersiveм научением и реагированием на авersiveные стимулы, в первую очередь, – вызывающие страх [36, 44, 45, 50, 132]. Повреждения миндалевидного комплекса нарушают способность распознавать испуганную мимику и интонацию испуга, а также устраняют недоверие к незнакомцам [36]. Активность миндалин может отражать степень уязвимости индивидуума к негативным эмоциональным стимулам [49]. В ранних работах Davidson [35, 38] локализовал систему избегания авersiveных стимулов в правой височной области и считал миндалину ее важнейшим центром. Позже этой структуре отводилась более нейтральная роль – реагирование на эмоционально значимые, новые или неопределенные стимулы вне зависимости от валентности [34, 44].

Миндалины имеют двусторонние связи с префронтальной и передней височной корой. Восходящие связи предположительно отражают эмоциональные влияния на когнитивные процессы, а нисходящие – подавление аффективных реакций [27, 36, 45, 54, 153]. Davidson [35, 36, 38, 44] предполагает, что способность справляться с эмоциями, то есть скорость восстановления фонового состояния после эмоционального переживания, определяется эффективностью ГАМК-эргической (связанной с  $\gamma$ -аминомасляной кислотой) модуляции миндалин нисходящими сигналами из префронтальной коры. Хотя четкая функциональная латерализация миндалевидного комплекса неочевидна [49], существуют убедительные данные в пользу специализации левой миндалины на обработке эмоционально негативного содержания [122]. Также было показано, что асимметрия коркового альфа-2 ритма связана с асимметричной активностью миндалин [204].

Существующие данные не подтверждают идеи Tucker [187] о том, что роль префронтальной коры состоит исключительно в подавлении нижележащих центров [170]. Префронтальная кора выступает как центр эмоциональной и мотивационной оперативной памяти, а также поддержания целе-

направленного характера поведения [49]. Правой префронтальной коре достаточно надежно приписывается специализация в эмоционально негативных состояниях [34, 36, 37, 40, 42, 43, 49] и в реализации поведения избегания [37, 40, 42, 43, 51, 132], и ее тормозящая роль может быть связана с более интенсивным метаболизмом серотонина [10]. Левая, напротив, преимущественно ассоциирована с позитивными эмоциями [37, 40, 42, 43, 45] и мотивацией приближения [34, 37, 40, 42, 43, 132]. Неравномерное распределение сигналов координации симметричных отделов префронтальной коры через мозолистое тело рассматривается как возможный источник АЛАР [108].

С анатомической точки зрения, АЛАР может быть связана с индексом плагиоцефалии, отражающим структурную асимметрию крупных долей мозга и костей черепа, хотя эта связь не изучена до конца [133]. Функциональная асимметрия префронтальной коры была подтверждена на материале пациентов с травмами головного мозга, а также в эмоциональных и мотивационных пробах у здоровых людей и пациентов с тревожными расстройствами [36, 44, 45, 50, 87]. Обратимое фармакологическое подавление активности правого полушария амобарбиталом в ряде наблюдений вызывало у испытуемых эйфорию, а левого — депрессивные переживания [87].

Оригинальная гипотеза о том, что в силу “пересечения” на территории префронтальной коры эмоциональных и исполнительных функций положительное эмоциональное состояние способствует продуктивности в вербальных задачах, а отрицательное — в пространственных, была эмпирически подтверждена в некоторых исследованиях [175]. Так, наибольшая фМРТ-активность левой префронтальной коры была отмечена, когда стимулами в когнитивной задаче были лица, а предварительно показанный фильм был эмоционально позитивным [72]. Уровень мотивации избегания, вызванной просмотром эмоциональных видеофрагментов, был связан с лучшим выполнением “правополушарных” заданий, то есть пространственных, а не вербальных [140]. Однако, согласно Ahern, Schwartz [4], в условиях когнитивно-эмоциональных задач АЛАР избирательно реагирует на эмоциональный компонент, а темная асимметрия — на тип когнитивной задачи. Другая гипотеза, состоящая в том, что интенсивные когнитивные нагрузки нарушают латерализованные реакции префронтальной коры на эмоциональную валентность, получила некоторое подтверждение в исследованиях оперативной памяти с эмоционально значимыми стимулами [74].

Префронтальная кора не является функционально однородной анатомической единицей [46, 129] и включает области с различными проекция-

ми, в частности, в таламус, гиппокамп и миндалину [27]. Применимость АЛАР как универсальной метрики эмоциональных реакций ограничивает тот факт, что наиболее прямо связанные с эмоциональной сферой регионы с наименьшей вероятностью проявляются в записях ЭЭГ со скальпа [46]. Это относится к орбитофронтальной коре, кодирующей аффективную валентность стимулов [46] и, возможно, демонстрирующей большую активность в контексте эмоции гнева [132]. Также минимально отражена в показателе АЛАР активность вентромедиальной префронтальной коры, служащей “библиотекой” элементарных эмоциональных реакций и ответственной за принятие решений на основании эмоциональной информации и за угашение ассоциаций через связи с миндалиной [36, 46, 153]. Эти области также являются ключевыми корковыми центрами вознаграждения, участвуя в прогнозировании последствий с подкрепляющей ценностью [34, 36, 44, 50].

Дорсолатеральная префронтальная кора, вносящая наибольший вклад в АЛАР, имеет преимущественно когнитивный функционал [142], в частности, формирует картину целевого состояния [36, 44–46]. Некоторые данные указывают на то, что орбитофронтальная кора передает информацию о вознаграждающей ценности стимула в дорсолатеральную префронтальную кору для модуляции поведения [36, 45]. Данные фМРТ указывают на то, что асимметрия ответа дорсолатеральной префронтальной коры зависит от реакций приближения к стимулу/удаления от стимула, но не от его эмоциональной оценки [17].

Наконец, медиальная префронтальная кора обеспечивает коммуникацию с подкорковыми мотивационными центрами, в первую очередь, с прилежащим ядром и удерживает в памяти отношения между поведением и связанными с ним подкреплениями. Существуют данные в пользу преимущественной связи этой области с обработкой позитивной эмоциональной информации [122], например, выбором из нескольких позитивных стимулов [175]. Тандем дорсолатеральной и медиальной префронтальной коры исходно рассматривался Davidson [41] как субстрат системы приближения.

Функциональную роль других структур, входящих в систему, упомянем кратко, поскольку их активность может отражаться на АЛАР лишь опосредованно. Передняя поясная извилина кодирует эмоциональные стимулы как релевантные, способствуя направлению на них повышенного внимания [49]. Также вентральная часть передней поясной извилины рассматривается как субстрат эмоциональной саморегуляции, активный в ситуации конфликта между различными эмоциональными тенденциями [36, 45, 83]. Разрешение

внутреннего конфликта и преодоление когнитивного диссонанса могут реализовываться через взаимодействие в системе поясная извилина—префронтальная кора [83]. Дорсальная часть активна при выборе из нескольких неприятных вариантов и в случае, если оказалось, что сделанный выбор не был оптимальным [175]. В когнитивных и мотивационных пробах АЛАР может быть связана с амплитудой вызванной негативности, отражающей работу системы внимания, включая когнитивный домен поясной извилины [134, 162] (см., однако, [7]). Также АЛАР, вероятно, является модератором возникновения различий в вызванной негативности между пробами с выигрышем и проигрышем [180]. В эмоциональных задачах АЛАР связана с амплитудой позднего положительного потенциала, что говорит о ключевой роли внимания в эмоциональном восприятии [3].

Гиппокамп кодирует связи подкрепления или наказания не со стимулом как таковым, а с обстановкой, в которой предъявляется стимул, и поражения гиппокампа связаны с эмоциональным поведением, неадекватным обстановке [36, 45, 50]. Передняя часть левого гиппокампа может продемонстрировать предпочтение контексту возникновения негативных эмоций [122]. Воздействие глюкокортикоидов усиливает апоптоз в левом гиппокампе, что нарушает связи префронтальная кора—гиппокамп в левом полушарии [27, 36, 45, 50].

Кора островка регулирует автономные процессы, сопутствующие эмоциональным реакциям [49]. Левополушарная кора островка, вероятно, более активна при обработке ответов, связанных с отрицательными эмоциями [122], в частности, с отвращением [132]. Вентральный стриатум как часть дофаминэргической системы вовлечен в продуцирование позитивных эмоциональных реакций, ответов на вознаграждения [49]; бледный шар также может демонстрировать активацию, связанную с отвращением [132].

Таким образом, понимание роли АЛАР основывается на 1) представлении об альфа-ритме как индикаторе бездействия корковых областей, 2) существовании асимметрии префронтальной коры, связывающей этот регион в левом полушарии с позитивными эмоциями и мотивацией приближения, а в правом — с негативными эмоциями и мотивацией избегания, 3) понимании отношений между структурами эмоциональной системы, в первую очередь — способности префронтальной коры тормозить реакции миндалевидного комплекса и 4) данных о специализации и взаимосвязях различных регионов внутри префронтальной коры. В данном обзоре под лево-/правополушарной асимметрией альфа-ритма будет пониматься большая мощность альфа ритма в левом/правом из симметричных лобных отведений, то есть

большая активность правой/левой симметричной структуры.

### АСИММЕТРИЯ ЛОБНОГО АЛЬФА-РИТМА И ТЕОРИИ ЭМОЦИЙ И МОТИВАЦИИ

Основное содержание этого раздела составляют теории, описывающие АЛАР с точки зрения устойчивости ее когнитивных коррелятов (связана ли АЛАР с текущим состоянием, устойчивыми индивидуальными чертами или сочетанием того и другого) и их характера (эмоциональные или мотивационные переменные). Однако будут упомянуты и некоторые теории эмоций и мотивации, не использовавшиеся для интерпретации АЛАР, но имеющие перспективы приложения к данному феномену.

Часть существующих исследований феномена указывает на связь фоновой АЛАР и температурных характеристик или вероятности/интенсивности реакций аффективной и мотивационной сфер, а другая — на смещение АЛАР при изменении состояния испытуемых, например, в момент выполнения какой-либо задачи. Тем не менее, нам неизвестны подходы, определяющие АЛАР исключительно как индивидуальную черту или как ситуативно изменяющийся параметр. Таким образом, в реальности оппозиция теорий не является строгой и отражает разные гипотетические соотношения значимости устойчивых и ситуативных компонент АЛАР.

Численно соотношение вклада индивидуальной черты и спонтанной изменчивости в показатели АЛАР оценивается как 60/40% (0.57/0.38% или 0.48/0.42% в F3/4, 0.51/0.44% или 0.47/0.45% в F7/8, 0.15/0.79% или 0.27/0.65% в Fp1/2 и 0.63/0.34% в T3/4) [76, 77, 80], однако исследования позирования эмоциональной мимики подчеркивают большую роль актуального состояния [30]. Ряд исследователей рассматривают АЛАР как отражение индивидуальной черты, которое, тем не менее, не только перманентно изменяется при некоторых условиях, но также подвержено временным, спонтанным или вызванным, модификациям [5, 87]. Ситуативные сдвиги АЛАР обычно происходят параллельно эмоциональным изменениям, но прямую связь между ними удастся установить редко [87]. Согласно Davidson [39], АЛАР достаточно устойчива и отражает индивидуальный эмоциональный стиль. Однако сильные воздействия, произошедшие до завершения масштабного синаптического прунинга (у людей — до 7 лет), например, зависимые от стиля родительского воспитания [127], могут перманентно изменить АЛАР. Также известны временные модификации АЛАР при фармакологическом лечении, медитации и в целом в ответ на ситуативные переменные [36, 45, 50]. В каждый конкретный момент фазические, временные, смещения АЛАР

накладываются на тонический, фоновый, показатель, что и формирует суммарное значение АЛАР [37, 40, 42, 43].

АЛАР в рамках этой модели отражает не жесткие правила эмоционального реагирования, а диатез — предрасположенность к позитивным или негативным ответам в соответствующей ситуации [34, 37, 40, 42, 43, 87]. При этом из базовых элементов эмоционального темперамента: фон настроения, порог возникновения эмоций, интенсивность пика эмоций, скорость достижения пика, форма кривой затухания и длительность затухания после пика, — по Р. Дэвидсону [34–36, 38, 44], префронтальная кора ответственна преимущественно за последний. Таким образом, например, левополушарная АЛАР, вызванная травмой мозга, не является достаточным условием развития депрессии, хотя и повышает ее вероятность [40]. Этой идее соответствует модель, в которой диспозиция испытуемого, потенциально связанная с межполушарной асимметрией, усиливает рефлексы соответствующей и подавляет рефлексы несоответствующей валентности; по крайней мере, это верно для рефлексов избегания, таких, как моргательный [36, 117]. Любопытно, что участники пилотного исследования с левополушарной АЛАР не изменяли ее в ответ на авersiveные изображения, а с правополушарной — еще сильнее усиливали асимметрию после окончания предъявления стимулов [112]. Соотношение тенденций приближения и избегания, вероятно, является достаточно устойчивой личностной чертой. Поэтому эта характеристика в ряде случаев может обуславливать поведение, противоречащее требованиям ситуации [158].

Capability model (модель потенциальной возможности) акцентирует роль ситуативных факторов. Поскольку АЛАР в состоянии покоя зачастую оказывается не связанной с показателями поведения приближения и избегания [167], возникла идея о том, что АЛАР вне эмоционального контекста нерелевантна мотивационным переменным или эмоциональному стилю. Модель потенциальной возможности предполагает, что АЛАР отражает способность индивидуума реализовать поведение приближения или избегания в соответствии с требованиями ситуации, что связано с качеством эмоциональной регуляции [32]. В такой формулировке модель потенциальной возможности достаточно близка к описанной выше модели диатеза и противостоит только радикально диспозиционному взгляду на АЛАР.

Согласно модели потенциальной возможности, роль АЛАР специфична относительно ситуации, в которой проведено измерение. Показано, что индивидуальные различия объясняют 26% дисперсии АЛАР в F3/4, задание (ситуация) — 5%, а сочетание этих факторов — 50%. При этом

для ЭЭГ в состоянии покоя межиндивидуальные различия объясняют 16% дисперсии АЛАР, а внутри отдельного взятого эмоционального состояния — от 41 до 91%. Наконец, известно, что АЛАР, ассоциированная с позированием страха, достоверно связана с выраженностью негативных эмоций, в то время как записанная в покое — нет [32].

Перейдем ко второму измерению значения АЛАР. Основными гипотезами о ее психологическом смысле являются 1) эмоциональная: а) валентности, б) валентности и степени возбуждения и в) предполагающая специфику различных базовых эмоций; 2) мотивационная: а) приближения/избегания и б) трех поведенческих систем Дж. Грэя; 3) выраженности торможения префронтальной корой нижележащих структур [136]. В каждом направлении исследований отмечаются работы, результаты которых противоречат данным основного корпуса, но, согласно Palmiero, Piccardi [136], относительное преимущество в эмпирической подтвержденности имеют модели приближения/избегания и валентности/возбуждения. Valconi, Mazza [13] отмечают, что валентность недостаточна для предсказания АЛАР, рассматривая уровень возбуждения в качестве второй переменной. Интересно, что Watson et al. [197] показывают несоответствие модели “валентность + возбуждение” эмпирическим данным, предлагая взамен модель “позитивное возбуждение + негативное возбуждение”, что принципиально соответствует системам поведения приближения и избегания. Менее принципиальная модификация — добавление к факторам валентности и возбуждения третьего, стандартного для изучения эмоций, фактора “доминантности” — ощущения контроля над ситуацией [56].

В соответствии с моделью валентности, в случае прямого манипулирования АЛАР (асимметричная двигательная активность, ТМС) удавалось достичь вторичного влияния на характеристики эмоционального ответа [87]. У неврологических пациентов органическому поражению мозга справа чаще сопутствовали реакции патологического смеха, а слева — патологического плача. При гемисферэктомии эйфория наблюдалась у пациентов с оперированным правым полушарием, а смех во время эпилептического припадка был более характерен для пациентов с левополушарным очагом [159]. Модель валентности подтверждается и амобарбиталовыми исследованиями, в которых левополушарные инъекции вызывали “катастрофический паттерн” (плач, жалобы, обострение чувства вины и обеспокоенность будущим), а правополушарные — эйфорические реакции [26, 56].

Данные изучения спонтанной и позированной мимики, как и непосредственно асимметрии

ЭЭГ, также, в основном, поддерживают гипотезу валентности [56]. Анализ нейровизуализационных работ позволяет предположить существование общей эмоциональной системы, а в ней — подсистемы негативных эмоций [122]. Согласно Dawson [55], интенсивность эмоций у детей первого года жизни ассоциирована с билатеральным снижением мощности альфа-ритма в лобных отведениях. Асимметричный ответ лобных долей позволяет разделить, по крайней мере, некоторые виды эмоций: левополушарная активность соответствует гневу, а правополушарная — печали. Эти данные поддерживают гипотезу валентности и возбуждения. По одним данным, классификация позитивных и негативных эмоциональных состояний с помощью ЭЭГ не требует данных о АЛАР и больше зависит от мощности в медленной гамма-полосе [177]. По другим — АЛАР в F3/4 и мощность альфа-ритма в FC5 используются для различения положительных и отрицательных эмоций, а АЛАР в AF3/4 и мощность альфа-ритма в F7 — для дифференциации разных видов положительных эмоций (радость, удовольствие, нежность) [124].

Гипотезе валентности зачастую противопоставляется правополушарная гипотеза, утверждающая правополушарное доминирование при обработке эмоциональной информации любого типа. Эта модель получила некоторое подтверждение в исследованиях анатомических поражений мозга, расщепленного или “анестезированного” амбарбиталом мозга, при предъявлении эмоциональных стимулов в одно ухо или одно поле зрения. Также показана большая вовлеченность левой (правополушарно иннервированной) стороны лица в мимические реакции и определенные аномалии правополушарных реакций мозга при тревожных расстройствах и повышенной агрессивности [56]. Согласно Silberman, Weingartner [170], при общем правополушарном доминировании в продуцировании эмоций и в эмоциональном контроле существует и полушарная специализация. Координация полушарий осуществляется через взаимное подавление с преимущественной ролью правого. Результаты о преимуществе правого полушария в обработке любой эмоциональной информации отчасти могут быть следствием преимущественного исследования негативных эмоций, нюансов методики эксперимента и более выраженной мультимодальной интеграции стимулов в правом полушарии.

По Davidson [40], правополушарная модель описывает различия в нервном субстрате восприятия, а не переживания эмоций. В исследовании Wyczesany et al. [201] при избирательном предъявлении фотографий эмоциональной мимики только в одно поле зрения отмечен рост эффективных связей ЭЭГ-сигналов в альфа-полосе для ряда регионов вокруг правой дорсолатеральной пре-

фронтальной коры, а отдельно для эмоции радости — также и в левом полушарии. При предъявлении фотографий в оба поля зрения, этот паттерн воспроизводился только для сочетаний радость — правое поле зрения и гнев — левое поле зрения [201]. Авторы рассматривают результаты как аргумент в пользу правополушарной гипотезы, однако нам прямая интерпретация этих данных видится затруднительной.

Значительно более принципиальной является оппозиция эмоциональных (валентности, валентности + возбуждения) и мотивационных моделей, сформулированных Вэнди Хэллер и Ричардом Дэвидсоном соответственно. При том, что различие между эмоциональной и мотивационной моделями является важнейшим, в большинстве случаев они дают согласованные предсказания и одинаково хорошо объясняют результаты исследований, поскольку состояние с мотивацией приближения обычно сопровождается позитивными эмоциями, а с мотивацией избегания — негативными [82, 83, 175].

Конструированию экспериментальных ситуаций, в которых предсказания моделей различались бы, посвящен обширный корпус исследований группы Эдди Хэрмон-Джонса. Основные усилия группы были сконцентрированы на эмоции гнева, негативной и при этом связанной с мотивацией приближения. Валентность гнева установлена по критериям Р. Лазаруса: обстоятельства, вызывающие эмоцию (негативные); адаптивные последствия переживания эмоции (чаще негативные); субъективный опыт переживания эмоции (чаще неприятный) [82, 83]. Неприятный характер переживания гнева в целом подтвержден в отдельном исследовании. Хотя ассоциированный с гневом дискомфорт был меньше у людей, часто испытывающих данную эмоцию, у готовых к взаимодействию с провоцирующими стимулами и у имеющих высокие показатели агрессивности и враждебности [88, 91], отношение испытуемых к эмоции гнева не было связано с показателями АЛАР и не опосредовало связи между ней и гневливостью [91].

Связь эмоции гнева с мотивацией приближения наблюдается и в животном мире (“наступательная агрессия”, то есть, осуществляемая без попытки избежать конфликта), и у людей. Гневливость человека сигнализирует о его оптимизме, упорстве в достижении целей, препятствует развитию реакций выученной беспомощности и способствует повторному приобретению ранее угащенных навыков [82, 83]. Гнев обычно возникает в ответ на препятствие, на целенаправленное враждебное действие или на нарушение законного порядка вещей и связан с намерением восстановления справедливости или причинения боли или ущерба оппоненту. Более строго, гнев ассо-

цирован с прекращением или отсутствием ожидаемого вознаграждения, а также с трудностями в достижении целей [26]. В исследованиях времени реакции показано, что приближение — естественная реакция на мимику гнева “собеседника”. Также выявлена более быстрая активность флексоров, по сравнению с экстензорами, в ответ на изображение гневной мимики [198]. Таким образом, гнев ассоциирован с мотивацией приближения в противовес другим негативным эмоциям, в частности, тревоги/страха. Часто наблюдаемую связь между ними авторы объясняют сходным уровнем возбуждения и валентностью, а также аверсивным контекстом [26]. Однако Watson [196] в комментарии к этой работе указывает на видимо, пропущено слово. уточнить и предполагает, что гнев включает общий для всех негативных эмоций компонент, связанный с избеганием, и специфичный, относящийся к приближению.

Большинство исследований продемонстрировало “левополушарность” эмоциональных реакций гнева, что стало серьезным аргументом в пользу гипотезы мотивационной направленности [56, 83, 87, 156]. Манипуляция деталями ситуации, например, возможностью для испытуемых повлиять на ситуацию, вызывающую гнев, в целом также подтвердила мотивационную модель [56, 82, 83, 90, 121, 175]. Помимо ситуации беспомощности, связь гнева и АЛАР нарушалась при выраженной амбивалентности (гнев и сострадание) [82–84]. Интересно, что мимика гнева и решительности (эмоции одной мотивационной направленности, но разной валентности) неразличима для стороннего наблюдателя [81]. Наконец, были показаны связи АЛАР с гневливостью как личностной чертой [26, 84, 156]. Однако, согласно Spielberg et al. [175], немногочисленные исследования гнева, ассоциированного с мотивацией избегания, говорят, скорее, против модели Davidson. Сами авторы считают преждевременным выбор “правильной” модели и указывают на продуктивность интеграции различных подходов.

Согласно E. Harmon-Jones [83], помимо публикаций по теме гнева, мотивационная гипотеза получила подтверждение со стороны работ, посвященных разрешению когнитивного диссонанса, хотя нам негативная валентность разрешения диссонанса видится спорной. В одном исследовании отражена связь правополушарной АЛАР с переживанием ревности, еще одной негативной эмоции, ассоциированной с приближением [89]. Работы Kline et al. [110], показавшие связь балла по шкалы лжи Г. Айзенка, отражающей конформные установки и поведение, с правополушарной АЛАР в F7/8 у женщин и, на уровне тренда, с левополушарной АЛАР в Fp1/2 у мужчин, и Pauls et al. [144], связавших произвольный и непроизвольный поиск социального одобрения с правополушарным доминированием мощности в аль-

фа-1-полосе в покое, также косвенно свидетельствуют в пользу мотивационной модели. По Davidson [39], левая префронтальная активность сопутствует позитивным эмоциям на пути к цели, но не следующим за ее достижением; этот взгляд подтверждается исследованиями позиирования мимики решительности и удовлетворения [151]. Наконец, в недавнем обзоре [86] показана связь относительной левополушарной активности с мотивацией приближения вне зависимости от эмоциональной валентности и, в меньшей степени, правополушарной активности с мотивацией избегания.

Ряд авторов предпринимали попытки к интеграции двух основных моделей, в основном, рассматривая эмоциональные феномены как производные от мотивационного направления. Davidson [43] утверждает, что измерение приближения/избегания — важнейшая ось, на которой и располагаются различные эмоции. Этот подход идейно близок к концепции Ф. Хэйдера, определяющего эмоции через близость объектов и их валентность [145]. Fox [61] предполагает, что тенденции приближения и избегания (феномены активности левой и правой фронтальной коры) носят изначальный характер и вызывают к жизни соответствующие моторные программы. Приближение в ходе взаимодействия со средой дифференцируется в более дискретные базовые эмоции: радость, интерес, гнев, — как и избегание: стресс, отвращение, страх. Когнитивное развитие в период 2-3 лет, включающее развитие самоконтроля, планирования, эмоционального интеллекта и связанное с созреванием лобных долей, способствует развитию сложных эмоций, таких, как гордость, ревность, тревога и другие. Wacker et al. [193] экспериментально оценили предсказательную силу различных простых и комбинированных моделей: валентности, конкретной эмоции, мотивационной направленности, сочетания эмоции и мотивационной направленности, а также систем по Дж. Грэйю, отдав некоторое преимущество последней.

Рассмотрение работ авторов, разрабатывающих тему АЛАР, наталкивает на мысль о вторичности, эпифеноменальности эмоций по отношению к мотивации в духе конструктивистской идеи Barrett [15] о том, что эмоции существуют только в социальном контексте — как внешняя интерпретация наблюдателями состояния индивидуума на основании его поведения и физиологических изменений. Tucker [187], не прибегая к идее социального контекста, рассматривает эмоции как сочетание определенного уровня возбуждения с сопутствующими когнитивными процессами, отрицающая существование “холодных” когнитивных процессов. В редукционистском аспекте интересна и концепция Newig [92], в которой АЛАР возникает в момент формирования намере-

ния, а субъективное аффективно-мотивационное сопровождение отражает силу этого намерения.

Внутри мотивационной гипотезы сформулированы две модели: мотивационной направленности Т. Шнейрлы (приближение или избегание стимула) и чувствительности к подкреплению Дж. Грэя (активация или подавление поведения). Эти модели часто смешиваются и рассматриваются как описывающие одни и те же феномены в разных терминах [94, 108]. Однако на уровне предсказаний модель Дж. Грэя расценивает признак подавления реакции, обычно в случае мотивационного конфликта, а модель мотивационной направленности, используемая также и Р. Дэвидсоном, — как индикатор реакции удаления от стимула (избегания) [108]; также модель активации/подавления поведения больше акцентирует связь АЛАР с чертами личности [56]. В некоторых работах высказана мысль о том, что система активации поведения включает реакции и приближения, и избегания [93, 94].

Модель приближения/избегания подтверждается исследованиями реакций на вознаграждения/наказания, эмоционально заряженные стимулы и позирование эмоций, а также связей АЛАР в покое и черт личности, например, социальной активности [56]. В целом, обе модели примерно в равной степени поддержаны эмпирическими данными [56, 108]. Небольшое преимущество имеет концепция Дж. Грэя [108, 193], однако данные в пользу левополушарности системы активации поведения однозначнее, чем в пользу правополушарности системы подавления поведения [56].

Истоки теории чувствительности к подкреплению Дж. Грэя [71] лежат в переосмыслении свойств темперамента по Г. Айзенку. Автор показал, что интроверты не более обучаемы в целом, а избирательно более чувствительны к наказанию и отсутствию вознаграждения, что приводит к лучшему научению в угрожающих ситуациях. Дж. Грэй вслед за Г. Айзенком считает, что интроверты отличаются большей фоновой возбудимостью, и у них ниже порог, за которым любой стимул воспринимается как наказание. Разница в социальной активности экстравертов и интровертов объясняется тем, что основной источник как вознаграждений, так и наказаний для человека — другие люди.

В исходной теории Дж. Грэя субстратом интроверсии считалась тормозящая система из орбитофронтальной коры, гиппокампа и медиального ядра перегородки [71]. Впоследствии система подавления поведения соотносилась с серотонинэргической системой (N. raphe и септо-гиппокампальная система), а активации поведения — с дофаминэргической системой (вентральная по-

крышка и вентральный стриатум с прилежащим ядром) [56].

Carver [25] акцентировал существование двух разных систем торможения поведения: автоматической, связанной с внезапно возникшей угрозой, и более произвольной, предполагающей свободный выбор из нескольких альтернатив. Это различие станет фундаментальным для пересмотренной теории Дж. Грэя. Согласно Smillie et al. [171], в обновленной теории изменилась роль всех систем. Сфера ответственности системы активации поведения стала включать условные и безусловные подкрепления, а ее функциональный смысл сместился от импульсивности в сторону экстраверсии. Из системы подавления поведения выделилась система борьбы, бегства и замирания, реагирующая на безусловные и условные негативные стимулы, а на уровне черт личности связанная с уязвимостью для страха, острого стресса. Система активации поведения и борьбы, бегства и замирания стали рассматриваться как взаимно подавляющие друг друга. При их одновременном включении активируется система подавления поведения, ставшая системой защиты, а не избегания [171].

В недавнем обзоре [66] и отдельных оригинальных исследованиях [7] система подавления поведения операционализируется как анализатор рисков, детектор ошибок и мотивационных конфликтов и регулятор поведения приближения и избегания, усиливающий реакции избегания. Функциями системы также являются снижение тревоги и поддержание иерархически организованной целенаправленной деятельности. Исследования поражений мозга, МРТ-волюметрии, ТМС, оценок импульсивности и контроля эмоциональных реакций подтверждают идею о связи правой лобной коры и работы пересмотренной системы избегания. Правополушарная активность во время аверсивной стимуляции объясняется тем, что система подавления поведения часто включается при работе системы бегства, борьбы и замирания. Авторы приводят аргументы против связи правополушарной лобной активности с работой системы бегства, борьбы и замирания, которую соотносят с работой миндалины и подкорковых ядер [66].

Резюмируя раздел, заметим, что оппозиция концепции диатеза и модели потенциальной возможности не является строгой, обе признают определенное влияние на показатель АЛАР со стороны индивидуальных различий и ситуации. Различие относится к соотношению ролей этих факторов. При этом, эмпирические данные многократных исследований одних и тех же людей указывают на то, что вклад индивидуальных различий в фоновые показатели АЛАР превышает 50%. Как эмоциональные, так и мотивационные

модели успешно объясняют большую часть экспериментальных данных, касающихся АЛАР, однако в случае расхождения предсказаний, например, при провокации у испытуемых эмоции гнева, мотивационная гипотеза оказывается более подтвержденной. Интеграция этих моделей, соответственно, обычно происходит через редукцию эмоциональных переменных к мотивационным.

#### РЕГИСТРАЦИЯ АСИММЕТРИИ ЛОБНОГО АЛЬФА-РИТМА: МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

В рассматриваемом направлении ЭЭГ-исследований сложились определенные традиции регистрации сигнала, связанные со спецификой сигнала в лобных отведениях, характеристиками альфа-диапазона ЭЭГ и ассоциированными с ним психическими процессами. По Kelley et al. [108], чувствительность АЛАР к внешним факторам — важная причина слабой реплицируемости результатов в этой области. Процесс наложения электродов должен быть максимально профессиональным и нейтральным, чтобы минимизировать влияние на эмоционально-мотивационную сферу (и, соответственно, АЛАР) непосредственно перед записью [173]. Показано, что подготовка к записи ЭЭГ снижает настроение испытуемых, что связано с левополушарным сдвигом АЛАР у мужчин и правополушарным у женщин в F3/4 и F7/8 [20]. Аналогично, нюансы ситуации могут существенно влиять на выявляемые в результате исследования связи АЛАР и личностных черт [176]. Таким образом, желательна оценка настроения испытуемых до и после подготовки [173].

Хотя влияние эмоций перед записью на оценки АЛАР в целом не было подтверждено, мотив самопрезентации, а также ситуации, подспудно провоцирующие мотивацию приближения или избегания, могут сказываться на результатах исследований АЛАР [76]. Schneider et al. [167] предположили, что связь АЛАР на ЭЭГ покоя с эмоциональными или мотивационными переменными носит артефактную природу и возникает из-за того, что условия не являются нейтральными для испытуемого. Примерами могут быть реакции на экспериментальную установку, ожидания следующего за записью эксперимента и опыт взаимодействия с исследователем противоположного пола.

Существуют доказательства систематических изменений АЛАР в зависимости от времени дня и года. У 176 студентов отмечено левополушарное смещение АЛАР в F7/8 и F3/4 на записях, сделанных осенью или зимой до полудня. Данные, полученные осенью-зимой после полудня и весной-летом в любое время дня, были сопоставимы [146]. В другой работе для сезона осень—зима, напротив, показано правополушарное смещение

АЛАР в F3/4, F7/8 и F5/6, а время дня, как и сочетание сезона и времени дня не оказывало влияния на АЛАР. Изменение АЛАР было связано не с сезоном как таковым, а с продолжительностью светового дня и с длительностью бодрствования на момент начала исследования. Пробуждение незадолго до записи ЭЭГ при коротком световом дне было ассоциировано с левополушарной АЛАР, а при длинном световом дне — наоборот. Хронотип испытуемых на результаты не влиял [189].

Мощность альфа-ритма в симметричных парах отведений обычно эквивалентна. В 32-канальном монтаже статистически значимая асимметрия в состоянии покоя выявляется только в Fp1/2, F1/2, F3/4 и T5/6 [179]. Несмотря на то, что в большинстве исследований АЛАР в F3/4 (дорсолатеральная префронтальная область), F7/8 (вентролатеральная префронтальная область) и Fp1/2 (лобный полюс) рассматривается отдельно в предположении об относительной независимости показателей, этот вопрос до сих пор слабо исследован. Факторный анализ ЭЭГ покоя у молодых взрослых людей показал, что при закрытых глазах формируется единственный фактор АЛАР, а при открытых — выделяются факторы FC-зоны, AF/Fp-зоны и F1/2 [195].

Длительность записи должна одновременно позволять получение надежных данных и не допускать снижения настроения и мотивации из-за усталости, которая может негативно влиять на стабильность результатов [107]. По Hagemann [76], вычисление асимметрии требует около 4 минут для приемлемой надежности и около 8 для высокой. Smith et al. [173] полагают, что достаточно 100 безартефактных эпох, что эквивалентно 2–9 минутам сырой ЭЭГ в зависимости от степени перекрытия эпох и загрязненности записи. Согласно Towers, Allen [186], после 140–160 чистых эпох увеличение продолжительности записи не приводит к приросту надежности АЛАР, при этом с оценкой надежности предсказуемо связана степень перекрытия эпох. Allen et al. [5] утверждают, что высокие показатели надежности могут быть получены из 2-минутной записи, а приемлемые — из минутной. В еще одном исследовании показана допустимость 15-секундных записей и надежность около 0.9 для 50-секундных [96]. Различия надежности между 8-минутными и более короткими записями, выявленные ранее [181], по Allen et al. [5], вызваны различным числом сегментов, на которые разделили запись, а не ее длительностью. Huster et al. [102] отмечают аналогичную тенденцию для надежности, измеренной расщеплением пополам.

Надежность АЛАР считается важной проблемой [29]. Однако, согласно Allen et al. [5], в рамках одной записи надежность АЛАР составляет от

0.76 до 0.91. Предполагается, что АЛАР для однородной пробы или специально отобранных сегментов ЭЭГ покоя более надежна, чем для фоновой записи, взятой целиком [173]. Надежность может быть увеличена за счет усреднения результатов нескольких записей; однако отбор только испытуемых со стабильной во времени АЛАР считается неэффективным [76, 77, 80].

Надежность АЛАР в записях покоя, измеренная расщеплением по полам, составила 0.70–0.83 для студентов [102, 111], 0.87 для разновозрастной группы взрослых людей [172] и около 0.9 в смешанной группе здоровых и депрессивных участников [186]. Надежность АЛАР у взрослых женщин при воображении, связанном с положительными эмоциями, оценивалась как 0.8–0.84 [191]; при пассивном просмотре видео показатель равнялся 0.99 для недавно родивших женщин и 0.81 для их годовалых детей [96]. Альфа Кронбаха для АЛАР на записях ЭЭГ покоя в F3/4 составила 0.81–0.88 у здоровых женщин [182, 191], 0.7–0.95 в группе студентов обоих полов [107, 111, 138] и приблизительно 0.9 для группы, включавшей здоровых и имеющих депрессивные расстройства в анамнезе испытуемых [186]. В группе здоровых мужчин и женщин при позировании эмоций  $\alpha$  варьировалась от 0.75 до 0.96 [31]. По некоторым данным, по сравнению с парой F3/4, F7/8 имеет более высокие, а Fp1/2 – низкие показатели надежности АЛАР [111], по другим – результаты для F3/4 и Fp1/2 сопоставимы [138].

Ретестовая надежность АЛАР в покое у взрослых людей составляет 0.69 для в пределах одного дня [192] и 0.44 для интервала 1–4 года [172]. У студентов надежность для записей с разницей в полчаса составила в Fp1/2  $r = 0.53$  и  $r = 0.48$ , а в F3/4 –  $r = 0.55$  и  $r = 0.71$  для альфа-1 и альфа-2 соответственно [139], на интервале 2–4 нед. – в Fp1/2  $r = 0.23$  и  $r = 0.34$ , а в F3/4 –  $r = 0.51$  и  $r = 0.52$  [138, 139]. В группе студентов женского пола надежность в пределах одной недели равнялась 0.44–0.68 для F3/4 [182]. В еще одной студенческой выборке для записей с 1.5-месячным перерывом надежность принимала значения 0.21 в Fp1/2 и 0.46–0.62 в других лобных и лобно-центральных парах [179].

У взрослых людей надежность АЛАР при наблюдении эмоциональных фотопортретов и определении экспрессии на них составила 0.77–0.89 в F3/4 и 0.91–0.95 – в F7/8 в пределах одной сессии и 0.42–0.45 в F3/4 и 0.63–0.69 в F7/8 при недельном перерыве [113]. У здоровых и активных пожилых людей АЛАР в Fp1/2, F3/4, F7/8 на записях одного и того же дня, до и после когнитивного теста, практически не различалась [126]. У студентов показана надежность  $r = 0.78$  между состояниями, включающими фоновую запись и выполнение когнитивных задач [149].

Отмечено влияние конкретной частотной полосы на получаемые результаты. Для взрослых людей надежность АЛАР на участках ЭЭГ длительностью 12–60 с, записанных в один и тот же день, принимала значения 0.54 в альфа-1- и 0.43 в альфа-2-полосе [193]. В еще одном исследовании корреляции АЛАР, записанной в разных отведениях, также были значительно выше в альфа-1-полосе (0.71–0.73 против 0.47–0.52) [139]. У испытуемых 18–30 лет надежность АЛАР в индивидуальном диапазоне составила 0.85 против 0.7 в стандартном для записей, сделанных в течение одного дня [152].

В возрастной перспективе, в разнополой группе подростков на интервале в 4 мес. показана  $r = 0.65$  [167], в небольшой группе девочек-подростков –  $r = 0.57$  для 1 месяца [199]. У девочек 14–16 лет, подвергавшихся насилию, показатель составил  $r = 0.41$  для перерыва в полгода и был незначимым через год [116]. У 6-месячных детей надежность АЛАР в покое на интервале в одну неделю составила 0.25 для F3/4 и 0.69 для F7/8, а у годовалых – 0.38 и 0.43, соответственно [21].

В целом, лонгитюдные данные детей и младенцев значительно более скромны, что может объясняться продолжением формирования нервной системы, необходимостью учитывать смешение частот ЭЭГ диапазонов вправо в ходе индивидуального развития и тенденцией оценивать надежность на более значительных интервалах. Howarth et al. [98] не обнаружили у 163 детей значимых корреляций АЛАР в F3/4 и F7/8, оцененной в разные моменты времени в первые 4 года жизни. Fox et al. [62] утверждают, что на отрезке 7–12 мес. дети демонстрируют некоторую стабильность АЛАР, однако корреляционные матрицы выглядят хаотично, и значительная часть корреляций метрик, записанных в разных временных точках, – отрицательные. По другим данным, надежность АЛАР в F3/4 и F7/8 в покое составляет 0.32 и 0.6 соответственно между обследованиями в 6 мес. и в год [21]. Оценка АЛАР с поправкой на частотный диапазон у детей в 3–6 мес. и в 3 года была относительно близкой ( $r = 0.66$ ), особенно если исходно отмечалась большая правополушарная активация [103]. Показаны корреляции между АЛАР на ЭЭГ покоя в 1 год и 7 лет с поправкой на частоты альфа-ритма:  $r = 0.32$  в F3/4,  $r = 0.48$  в F7/8 и  $r = 0.5$  в F9/10, при усреднении по лобным электродам –  $r = 0.64$  [131]. Надежность латеральной АЛАР для измерений в 3 и 6 лет равнялась 0.2–0.26, а для медиальной АЛАР не была значимой [69]. На временных отрезках 0.5–3 года у детей 3–5 лет надежность АЛАР при открытых глазах составляла 0.38–0.48, а в 6–9 лет – была недостоверной. При закрытых глазах надежность в F3/4 оценивалась как  $r = 0.31$  в 3–5 лет и  $r = 0.45$  в 6–9 лет, а в F7/8 была незначимой [190].

Широко обсуждается проблема референса, поскольку результаты вычисления асимметрии, полученные при различных схемах, могут не коррелировать друг с другом. В пробах с эмоциональной стимуляцией эта проблема выражена слабее, однако при записи фоновых значений — достаточно сильно [32]. Особенно это касается схем с референсным Cz и объединенным ушным электродом [76]. При этом сравнительно хорошо согласованы результаты для 1) схемы с референсным Cz и с преобразованием в плотность источников тока (CSD) и 2) схемы со средним по всем отведениям и объединенным ушным референсом [76, 79].

Все популярные схемы референса уязвимы к тем или иным артефактам [76, 79, 173]. Референс, усредненный по всем отведениям, и референс Cz обычно характеризуются более мощным альфа-ритмом, чем в лобных отведениях, что приводит к появлению в последних “зеркального” альфа-ритма. Мастоидный (ушной) референс также может не являться нейтральным с точки зрения альфа-ритма, а отдельный ушной референс — влиять на асимметрию сигналов ЭЭГ. Референс к Cz считается наиболее слабым решением, т.к. получаемые с ним данные в наименьшей степени связаны с результатами для других монтажей [5]. Для исходной записи часто рекомендуется та или иная модификация ушного референса [35, 38, 76, 182, 186]. После записи предлагается преобразовывать сигнал в CSD [35, 38, 76, 79, 173], что освобождает сигнал от влияния референса, может положительно влиять на его надежность и специфичность [76] и снижает колебания АЛАР в зависимости от времени года и суток [189]. Физиологический смысл преобразования состоит в минимизации влияния объемного проведения на топографию ЭЭГ [154]. Обратными сторонами применения метода являются зависимость от количества доступных отведений и снижение качества преобразования для крайних электродов [173]. В связи с этим, Allen et al. [5] в качестве альтернативы предлагают приводить данные для различных схем монтажа.

Несмотря на то, что процедуры подготовки кожи головы для снижения подэлектродного сопротивления считаются важной частью методики, нам известно только одно исследование вопроса применительно к АЛАР. При использовании современных усилителей с высоким входным сопротивлением расчеты показывают, что различия в сопротивлении до 10 кОм между электродами одной пары оказывают на результаты измерения пренебрежимое влияние [5].

В подавляющем большинстве исследований рассматривается стандартный альфа-диапазон — от 7–8 до 12–13 Гц (для младенцев часто применяются границы 6–9 Гц, для детей первых лет

жизни — промежуточные значения). В некоторых случаях анализ проводится отдельно для медленно-го и быстро-го поддиапазонов (альфа-1 и альфа-2) [75, 138, 193]. Спектральный факторный анализ показал в качестве наилучшего решения выделение двух полос альфа — 6–9 и 10–11 Гц, — однако такой подход не улучшил показатели корреляции АЛАР с психологическими переменными [168]. Несмотря на данные о важности учета индивидуальных частотных характеристик альфа-ритма [16, 152], в исследованиях АЛАР они практически не используются.

В целом, то, что в разных исследованиях значимые результаты получены для разных монтажей, разных пар отведений и подчас для разных границ альфа-полосы, может 1) отражать ошибки первого рода, к которым подобные исследовательские стратегии уязвимы, 2) указывать на роль глобальной АЛАР как скрытой переменной, с некоторым искажением отраженной в измеряемых параметрах конкретных исследований, или 3) на существование еще не сформулированных правил о том, в каком случае результат отмечается в конкретном монтаже и конкретной паре лобных электродов [5].

Индекс асимметрии рекомендуется рассчитывать как разность логарифмированных значений мощности в каждом отведении [173], что позволяет приблизить распределение данных к нормальному за счет изменения куртозиса и устранения асимметрии [5, 76]. Альтернативный метод с нормировкой разности мощностей в каналах на их сумму коррелирует с вышеописанным при  $r > 0.99$ , однако демонстрирует снижение качества при экстремально низких значениях в одном из каналов [5].

Во многих случаях интересен вопрос о мощности альфа-ритма отдельно в симметричных отведениях. Практически это может быть реализовано добавлением фактора полушария в линейную модель [5]. Другой вариант — применение к показателям процедур резидуализации или нормализации [173], например, с использованием усредненной мощности по скальпу и мощности в контралатеральном отведении, чтобы учесть эффекты объемного проведения и кортико-кортикальных связей соответственно [5].

Согласно Hagemann [76], закрыты или открыты глаза испытуемых во время записи, как и загрязненность ЭЭГ артефактами и стратегия их коррекции, практически не влияет на результаты исследований АЛАР (однако см. [85] о слабой связанности оценок АЛАР при закрытых и открытых глазах). Окулографические артефакты могут искажать абсолютные показатели мощности альфа-ритма в отведениях лобного полюса (Fp1,2), однако их воздействие на АЛАР существенно меньше [5, 78], и даже в окулографических отведениях большая часть сигнала в альфа-

диапазоне – церебрального происхождения [5]. В любом случае, крупные окулограммы обычно легко выделить, а медленные движения глаз практически не влияют на мощность в альфа-диапазоне [35, 38]. АЛАР из ЭЭГ до и после коррекции окулограмм коррелируют при  $r > 0.82$ , хотя и неизвестно, в какой степени в этих случаях совпадают корреляции АЛАР с третьими переменными [5]. Отмечается также, что инструкция избегать моргания не увеличивает качества записи и создает неудобства для испытуемых [76].

Большая часть спектра электромиограммы (ЭМГ) расположена на спектре правее альфа-диапазона, однако мышечное напряжение может оказывать небольшое воздействие и на альфа-диапазон [5, 35, 38]. В целом, вклад ЭМГ в вариативность корковой ЭЭГ – около 7% [5], и в отдельных случаях ЭМГ влияет на индивидуальные данные ЭЭГ, но не на групповые результаты [31]. Одним из подходов к коррекции ЭМГ-артефактов может быть резидуализация ЭЭГ-сигнала на основании мощности ЭМГ, оцененной в диапазоне от 60 Гц, где собственная нервная активность минимальна [35, 38]. Существующие исследования показали, что выделение из ЭЭГ сигналов ЭМГ-составляющей не изменяло полученных результатов [5]. В современных работах рекомендуется устранение мышечных и окулографических артефактов на основании анализа независимых компонент в сочетании с автоматическими процедурами маркировки артефактных составляющих сигнала [173].

Таким образом, ключевыми аспектами методики регистрации АЛАР являются нейтральный и стандартный характер подготовки к записи ЭЭГ, выбор оптимального исходного монтажа (с последующей трансформацией данных в CSD) и длительности регистрации с тем, чтобы обеспечить надежность результатов. Частотный диапазон и пары отведений для анализа при этом обычно стандартны и воспроизводятся в большинстве исследований. Глазодвигательные и мышечные артефакты, в основном, не искажают значений АЛАР и могут быть сравнительно легко удалены из записей ЭЭГ.

### ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ АСИММЕТРИИ ФРОНТАЛЬНЫХ ОБЛАСТЕЙ МОЗГА

Асимметрия префронтальной коры в эмоциональной и мотивационной сферах не является уникальной для человека. Макаки-резусы демонстрируют аналогичную латерализацию: правополушарное доминирование в лобной доле, по данным ЭЭГ и ПЭТ, отражает склонность к робкому поведению [104], особенно в стрессовой ситуации [52, 155]. Несмотря на то, что префронтальная кора гистологически обособлена от премо-

торной только у приматов, у грызунов обнаруживается область-предшественник [27], и у крыс церебральный ответ на различные типы стрессоров наиболее однороден в правой медиальной префронтальной зоне [178].

Большинство исследователей вопроса полагают, что асимметрия префронтальной коры является частным проявлением специализации более старых систем мозга. Согласно Verntson et al. [18], функциональная латерализация нервной системы максимальна в древних областях нервной системы, а эволюционный прогресс, напротив, направлен в сторону межполушарной интеграции. Связанные с левым и правым полушарием тенденции к приближению/избеганию рассматриваются как базовые механизмы, реализующиеся уже на уровне спинальных рефлексов. В пользу фундаментальной роли асимметрии мозга как субстрата реакций приближения говорит ее влияние на сравнительно ранние (N1, около 100 мс) компоненты реакции на позитивные зрительные стимулы [65].

Еще одна гипотеза связывает функциональную асимметрию лобных долей и латерализацию автономной нервной системы. Левая лобная кора обязана своей функциональной ролью парасимпатической нервной системе, связанной с накоплением энергии, а правая – симпатической, опосредующей расходование энергии [33]. Отчасти близкая идея высказана также Foster, Harrison [60]. Так или иначе, АЛАР ассоциирована с автономными параметрами, включая кожную проводимость [203] и ряд показателей сердечной активности [60, 114, 115, 141, 143, 150, 163, 202].

Подобным образом лобная эмоциональная асимметрия может рассматриваться и в контексте вентральной и дорсальной подсистем. Правое полушарие более вовлечено в вентральную подсистему, включающуюся в ситуациях прямой угрозы, нехватки информации или ресурсов и, таким образом, вторично связано с мотивацией избегания и негативными эмоциями. Левое же приблизительно равномерно включено в работу вентральной и дорсальной систем и, следовательно, более активно в знакомых ситуациях и при удовлетворенности базовых потребностей, что приводит к его ассоциации с мотивацией достижения и приближения и с позитивными эмоциями [55, 183]. Этой концепции, тем не менее, противоречат наблюдения более интенсивной реакции левого полушария мозга человека и других млекопитающих на ситуацию новизны [1].

Функциональная асимметрия в перцептивной сфере отмечается уже у паукообразных, рыб и амфибий. Левое полушарие специализируется на поиске пищи, манипулировании внешними объектами (у приматов), подавлении интенсивных эмоций и агрессивного поведения и распознава-

нии вокализаций, специфичных для своего вида. Правое полушарие – на обнаружении хищников, поведении бегства, эмоции страха, агрессивном, половом и ином социальном поведении [26, 87, 108, 188]. В целом, реакции левого полушария являются сравнительно произвольными и гибкими, а правого – более ригидными. Перцептивная асимметрия приводит к повышению эффективности когнитивных функций за счет экономии узлов [108]. Однако это не объясняет устойчивого преобладания одного паттерна асимметрии в популяции [188]. Несмотря на то, что на индивидуальном уровне перцептивная латерализация не оправдана (пища не обязательно находится справа, а опасность – слева), она может становиться преимуществом в группах животных, способствуя согласованным действиям [188].

Помимо перцептивной, АЛАР зачастую связывают с моторной асимметрией. Предполагается эволюционная значимость связи поведения при приближении с активностью левого полушария, контролирующего правую (обычно ведущую) руку [147]. Эта идея оформлена в гипотезе “меча и щита” [22]. Согласно некоторым данным, влияние моторики на мио-ритм распространяется впереди, во фронтальную область [147]. Однако различия связи между задействованием системы активации поведения и фоновой асимметрией альфа-ритма у правшей и левшей локализуются преимущественно в теменной и отчасти височной области [22]. В последующих главах приводится ряд исследований отношений между асимметричными движениями и АЛАР, а также изменениями в переживаемых эмоциях.

Таким образом, функциональная асимметрия лобных долей имеет глубокие эволюционные корни и основана на сенсорной и моторной асимметрии, показанной даже у беспозвоночных. Эта асимметрия, вероятнее всего, является субстратом инстинктивных паттернов, связанных с поведением в безопасной и угрожающей ситуации, что обуславливает в конечном счете ассоциацию АЛАР у приматов, включая людей, с мотивационными и эмоциональными переменными.

#### АСИММЕТРИЯ ЛОБНОГО АЛЬФА-РИТМА: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Представление о том, что фоновое значение АЛАР – это индивидуальная характеристика, делает интересным ее изучение как потенциального эндофенотипа темпераментных и стилевых черт личности. С этой точки зрения закономерны работы, посвященные наследуемости АЛАР. В близнецовом исследовании более 700 человек наследуемость АЛАР выявлена только в подгруппе участников моложе 35 лет (32% у мужчин, 37% у женщин) [172]. При изучении 246 женщин в возрасте 17–27 лет показана высокая наследуемость

мощности лобного альфа-ритма на ЭЭГ покоя при закрытых глазах (85–87%), а для АЛАР – низкая в паре F3/4 (27%) и никакой в паре F7/8 [9]. Аналогично, исследование близнецов, всего 951 ребенка 9–10 лет, продемонстрировало высокую наследуемость мощности альфа-ритма на ЭЭГ покоя в отдельных фронтальных отведениях (70–85%) при скромной, но значимой наследуемости АЛАР (11–27%), вне зависимости от пола [67]. Согласно данным еще одной работы, АЛАР у детей в 1 год и их матерей с поправкой на частотный диапазон коррелирует с  $r = 0.41$  [96].

На уровне конкретных генов наиболее интересны полиморфизмы, влияющие на серотонинэргическую и дофаминэргическую трансмиссию. У 313 испытуемых в возрасте 18–33 лет, в основном, женщин, в континууме от психически здоровых до клинически депрессивных показано, что генотип GG в HTR1A связан с меньшей мощностью альфа-ритма в правой лобной доле для пар F7/8, F5/6, F1/2. Для полиморфизма HTR1B и HTTLPR связей с АЛАР не обнаружено [19]. В группе из 195 здоровых женщин также не выявлено связи между полиморфизмом 5-HTTLPR и 5-HTTVNTR и показателями лобного альфа-ритма: все межгрупповые различия касались только гамма-полосы [119]. Однако в разновозрастной группе 165 женщин интенсивность вызванного сдвига АЛАР влево в ответ на негативный стимул была выше у гомозигот по короткому аллелю 5-HTTLPR [137]. Среди детей в возрасте 4–6 лет гомозиготы по длинному варианту 5-HTTLPR характеризовались правосторонней АЛАР (7–11 Гц для 36 отведений в окружности F3/4 и F1/2) при просмотре коротких видео с социальным и несоциальным содержанием [28].

Помимо серотонинэргической, интересна и вариабельность параметров дофаминэргической системы, зачастую фигурирующих в качестве модераторов связей АЛАР и психологических переменных [191, 194]. Выявлено взаимодействие полиморфизма DRD4 и АЛАР в 9 мес. в предсказании темперамента детей в 4 года. Дети с длинным аллелем DRD4 и правополушарной АЛАР были более эмоционально устойчивыми, но при этом более склонными к трудностям в концентрации внимания [165]. Schmidt, Miskovic [166] предложили рассматривать АЛАР как “внутренний средовой фактор”, взаимодействующий с полиморфизмом DRD4, определяющим чувствительность рецепторов к дофамину. В варианте с коротким аллелем влияние АЛАР минимально, однако сочетание длинного аллеля DRD4 и левополушарной АЛАР характерно для носителей робости как черты темперамента.

АЛАР также связана с вариациями в интенсивности метилирования катехоламинов катехол-*O*-метилтрансферазой, зависящей от по-

лиморфизма Val158Met и особенно важной для инактивации дофамина в префронтальной коре [194]. Показано, что полиморфизм Val158Met у взрослых мужчин связан с показателями АЛАР [194]. У студентов обоих полов АЛАР опосредовала ассоциацию полиморфизма rs4680 в гене COMT и интенсивности положительных эмоций при выигрыше [106].

Таким образом, АЛАР демонстрирует небольшую, но статистически значимую наследуемость (по разным оценкам, 11–37%), по крайней мере, в группах детей и молодых взрослых людей. Получены некоторые данные о связи АЛАР с полиморфизмами в 5-HTTLPR, DRD4 и COMT, однако сложно рассматривать их как исчерпывающие.

### АСИММЕТРИЯ АКТИВНОСТИ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ: СВЯЗИ С ЭНДОКРИННЫМИ И ИММУННЫМИ ПЕРЕМЕННЫМИ

Известно, что кортизол оказывает существенное и асимметричное воздействие на префронтальную кору. Экспозиция к высокому уровню кортизола приводит к сокращению объема мозгового вещества и гибели дендритов преимущественно в левом полушарии, устранению левополушарного доминирования в префронтальной области [27]. Таким образом, связь уровня кортизола с относительной правополушарной активацией или левосторонней АЛАР была бы ожидаемой. У приматов эта гипотеза подтверждается как на уровне устойчивых индивидуальных различий [104], так и в контексте острой реакции на стресс [155].

У здоровых новорожденных большая правополушарная активность (что принципиально аналогично левосторонней АЛАР) в паре F3/4 была связана с высокими показателями кортизола для самих испытуемых и их матерей [59]. Среди 6-месячных детей подгруппа с левополушарной АЛАР в паре Fp1/2 в состоянии покоя демонстрировала большую концентрацию кортизола при фоновом исследовании и ее прирост во время стресс-теста [23]. Дети, показавшие левополушарную АЛАР в самом стресс-тесте, характеризовались большим уровнем кортизола в слюне, взятой дома уже после эксперимента [23].

У взрослых людей левополушарное смещение АЛАР в F3/4 и F7/8 в условиях стресса было ассоциировано с кортизоловым ответом [58, 95, 202]. Рост уровня кортизола в стресс-тесте оказался связанным с левополушарной АЛАР в F3/4 как до, так и после теста [152]. В оригинально поставленном эксперименте показано, что уровень кортизола в слюне после просмотра негативно окрашенного фильма повышался в случае, если фильм предъявлялся избирательно в левое поле

зрения (правое полушарие мозга) [200]. В еще одной работе не показано корреляционных связей ЭЭГ-реакции на стресс и повышения уровня кортизола [120], однако в данном случае стресс не вызывал достоверного изменения АЛАР в какой-либо паре лобных отведений.

Наконец, существуют данные о прямом экспериментальном воздействии на уровень кортизола. Один и тот же коллектив, проведя кроссовер-исследования эффектов однократного приема кортизола, в сравнении с плацебо, получил противоположные выводы: в одном случае мощность альфа-ритма в F7 избирательно снижалась, а в другом – избирательно повышалась [184, 185]. Сами авторы интерпретируют расхождение результатов как следствие разницы экспериментальных условий [184]. Четырехдневный прием студентами мужского пола глюкокортикостероида преднизона, по сравнению с плацебо, был связан с негативным фоном настроения и левополушарной АЛАР в F3/4 [164].

Поскольку АЛАР имеет определенные суточные и сезонные колебания, интерес представляют работы, связывающие их с динамикой кортизола. Показано, что у мужчин повышение уровня кортизола в слюне в первый час после пробуждения сопряжено со смещением вправо АЛАР в FC1/2 и FC3/4 на ЭЭГ покоя [57]. Однако в целом, несмотря на популярность данной идеи [87], прямое влияние утреннего пика кортизола на суточную динамику АЛАР маловероятно [189].

Отмечены взаимодействия АЛАР и эффектов других гормонов в модуляции поведения человека. Среди участниц с преимущественно левополушарной АЛАР, получивших окситоцин, но не плацебо, объем реально сделанных благотворительных пожертвований был выше у испытуемых, которых реже воспитывали лишением родительской любви [101].

Еще один важный вопрос (учитывая, что большинство исследований АЛАР выполнено на испытуемых преимущественно женского пола) – влияние менструального цикла на показатели АЛАР. В двух исследованиях с небольшими выборками показано, что у здоровых женщин АЛАР не изменяется в зависимости от фазы цикла [12, 174], однако в этих случаях возможно влияние недостатка статистической мощности на полученные результаты. Среди женщин в состоянии менопаузы АЛАР не отличалась в группах испытуемых, принимавших эстрадиол и плацебо [160]. При этом показано увеличение доли записи ЭЭГ с левополушарной АЛАР у женщин с пременструальным синдромом в лютеиновой фазе [12]. Среди здоровых женщин более нейротичные участницы отличались от эмоционально стабильных левополушарной АЛАР для альфа-1 диапазона в Fp1/2 только в поздней лютеиновой фазе [100].

В еще одном исследовании АЛАР на ЭЭГ покоя была более левополушарной в овуляторной фазе и правополушарной — в менструальной, причем результаты не были связаны с уровнем тревожности [99]. Наконец, группа с выраженным уровнем симптоматики (но без формального диагноза) пременструального синдрома показала более левополушарную АЛАР в паре F7C1/2 и тренд в паре T3/4 вне зависимости от фазы менструального цикла [2].

Таким образом, кортизол действительно ассоциирован с левополушарной АЛАР. Это проявляется и на уровне индивидуальных различий, и при анализе изменений параметров в ответ на стресс. Однако связь суточных и сезонных колебаний этих показателей видится недостаточно изученной. Также неоднозначны данные о влиянии менструального цикла на АЛАР в здоровых популяциях. При этом, в определенных условиях повышение уровня прогестерона в лютеиновой фазе может провоцировать левополушарное смещение АЛАР [100].

В ряде исследований делались попытки отследить связи АЛАР и работы иммунной системы. У студентов правосторонняя АЛАР в F3/4, F7/8 и T3/4 положительно коррелировала с активностью НК-клеток, взятых в состоянии покоя. Также правосторонняя АЛАР в F7/8 была связана с сохранением активности клеток перед субъективно наиболее сложным экзаменом. АЛАР в покое объясняла больший процент дисперсии изменения активности НК-клеток, чем фоновый уровень их активности. Кроме того, АЛАР в F7/8 была слабым, но значимым предиктором активности НК-клеток после просмотра попури из фильмов позитивного содержания [47]. В еще одной работе у женщин с контрастными и стабильными в пределах двух встреч паттернами АЛАР в F3/4 и T3/4 было проведено иммунологическое обследование через 4–20 месяцев после записи ЭЭГ. Лица с правополушарной АЛАР отличались большим количеством НК-клеток и меньшей концентрацией М иммуноглобулинов. Межгрупповых различий по Т-клеткам и пролиферации лимфоцитов обнаружено не было [105].

У испытуемых в возрасте 57–60 лет правополушарная фоновая АЛАР в Fp1/2 и F7/8 и АЛАР в Fp1/2 при вспоминании негативного события из жизни была связана с более высоким уровнем антител к вирусам гриппа через полгода после вакцинации [157]. Однако, согласно Davidson et al. [51], уровень антител при вакцинации от гриппа связан с правополушарной асимметрией в центральной, а не лобной области. В еще одном исследовании изменения иммунного ответа и АЛАР развивались параллельно, но их корреляции не были оценены авторами [130].

У 158 испытуемых из национальной репрезентативной выборки для США левополушарная АЛАР (усредненная в Fp1/2, F3/4, F7/8) была ассоциирована с уровнем провоспалительных цитокинов после учета десяти ковариат [169]. В последующем исследовании с большей разновозрастной выборкой левополушарная АЛАР показала корреляция с композитной оценкой, основанной на нескольких воспалительных биомаркерах. Эта связь выявлялась только у лиц с сильным детским травмирующим опытом, что рассматривается как подтверждение диатез-стресс модели [97]. Ассоциация левополушарной АЛАР с фоновым уровнем провоспалительных цитокинов и повышением их уровня в ответ на стресс подтверждена в еще одном исследовании молодых людей, преимущественно, женщин [125].

Таким образом, наиболее доказанной является связь активности НК-клеток с правосторонней АЛАР, данные относительно развития специфического иммунитета после вакцинации не являются согласованными. Также в сильных с методической точки зрения исследованиях показана ассоциация между уровнем провоспалительных цитокинов и левосторонней АЛАР.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Асимметрия лобного альфа-ритма (АЛАР) — ЭЭГ-биомаркер, отражающий сравнительную активность левой и правой префронтальной коры. Топографически наибольший вклад в АЛАР вносит дорсолатеральная префронтальная кора. При этом эмоциональное и мотивационное значение биомаркера связывают с взаимодействиями внутри префронтальной коры и нисходящими проекциями в эмоциональные церебральные регионы, в первую очередь, миндалину.

2. Основные гипотезы функционального значения АЛАР указывают на ее эмоциональную и мотивационную роль. В большинстве случаев правополушарная АЛАР ассоциирована как с позитивными эмоциональными состояниями, так и с мотивацией приближения, а левосторонняя — с негативными эмоциями и мотивацией избегания. Однако в случаях, когда эмоциональная и мотивационная гипотезы порождают расходящиеся предсказания (например, при провокации гнева), подтверждается преимущественно мотивационная.

3. АЛАР демонстрирует одновременно индивидуальную характеристику и особенности состояния испытуемого. При сопоставлении данных, полученных в ходе одинаковых ЭЭГ-записей покоя, сделанных в разные дни, показано, что соотношение в показателе АЛАР индивидуальных свойств и временной изменчивости может достигать 60/40.

4. Наиболее часто АЛАР регистрируют в парах отведений F3/4, F7/8 и Fp1/2 в стандартном или смещенном влево в соответствии с возрастом испытуемых альфа-диапазоне. АЛАР мало подвержена влиянию мышечных и окулярных артефактов, однако зависит от выбранного монтажа, поэтому в исследованиях АЛАР рекомендуется CSD-преобразование данных ЭЭГ.

5. АЛАР тесно сопряжена с другими формами функциональной асимметрии, включая моторную и сенсорную. Эти виды асимметрии являются сравнительно старыми и наблюдаются уже у беспозвоночных.

6. У молодых людей подтверждена наследуемость АЛАР, варьирующаяся в разных исследованиях от 11 до 37%. АЛАР связывают с полиморфизмом нескольких генов, влияющих на серотонинэргическую и дофаминэргическую трансмиссию.

7. Уровень кортизола и провоспалительных цитокинов связан с левополушарной АЛАР. Активность НК-клеток, напротив, ассоциирована с правосторонней АЛАР.

ГРАНТ № МК-1570.2020.7 Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Симонов П.В., Русалова М.Н., Преображенская Л.А., Ванецян Г.Л.* Фактор новизны и асимметрия деятельности мозга // Журн. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 1995. Т. 45. № 1. С. 13–17.
2. *Accorrtt E.E., Allen J.J.* Frontal EEG asymmetry and premenstrual dysphoric symptomatology // J. Abnormal Psychology. 2006. V. 115. № 1. P. 179–184. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.115.1.179>
3. *Adolph D., von Glischinski M., Wannemüller A., Margraf J.* The influence of frontal alpha-asymmetry on the processing of approach- and withdrawal-related stimuli – A multichannel psychophysiology study // Psychophysiology. 2017. V. 54. № 9. P. 1295–1310. <https://doi.org/10.1111/psyp.12878>
4. *Ahern G.L., Schwartz G.E.* Differential lateralization for positive and negative emotion in the human brain: EEG spectral analysis // Neuropsychologia. 1985. V. 23. № 6. P. 745–755. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(85\)90081-8](https://doi.org/10.1016/0028-3932(85)90081-8)
5. *Allen J.J., Coan J.A., Nazarian M.* Issues and assumptions on the road from raw signals to metrics of frontal EEG asymmetry in emotion // Biological Psychology. 2004. V. 67. № 1–2. P. 183–218. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.007>
6. *Allen J.J., Kline J.P.* Frontal EEG asymmetry, emotion, and psychopathology: the first, and the next 25 years // Biological Psychology. 2004. V. 67. № 1–2. P. 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.001>
7. *Amodio D.M., Master S.L., Yee C.M., Taylor S.E.* Neurocognitive components of the behavioral inhibition and activation systems: implications for theories of self-regulation // Psychophysiology. 2008. V. 45. № 1. P. 11–19. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2007.00609.x>
8. *Amodio D.M., Shah J.Y., Sigelman J. et al.* Implicit regulatory focus associated with asymmetrical frontal cortical activity // J. Experimental Social Psychology. 2004. V. 40. № 2. P. 225–232. [https://doi.org/10.1016/S0022-1031\(03\)00100-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1031(03)00100-8)
9. *Anokhin A.P., Heath A.C., Myers E.* Genetic and environmental influences on frontal EEG asymmetry: a twin study // Biological Psychology. 2006. V. 71. № 3. P. 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.06.004>
10. *Arato M., Frecska E., MacCrimmon D.J. et al.* Serotonergic interhemispheric asymmetry: Neurochemical and pharmacology-EEG evidence // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 1991. V. 15. № 6. P. 759–764. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(91\)90004-K](https://doi.org/10.1016/0278-5846(91)90004-K)
11. *Baehr E., Rosenfeld J.P., Baehr R., Earnest C.* Comparison of two EEG asymmetry indices in depressed patients vs. normal controls // International J. Psychophysiology. 1998. V. 31. № 1. P. 89–92. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(98\)00041-5](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(98)00041-5)
12. *Baehr E., Rosenfeld P., Miller L., Baehr R.* Premenstrual dysphoric disorder and changes in frontal alpha asymmetry // International J. Psychophysiology. 2004. V. 52. № 2. P. 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2003.06.002>
13. *Balconi M., Mazza G.* Lateralisation effect in comprehension of emotional facial expression: a comparison between EEG alpha band power and behavioural inhibition (BIS) and activation (BAS) systems // Laterality. 2010. V. 15. № 3. P. 361–384. <https://doi.org/10.1080/13576500902886056>
14. *Balconi M., Vanutelli M.E., Grippa E.* Resting state and personality component (BIS/BAS) predict the brain activity (EEG and fNIRS measure) in response to emotional cues // Brain and Behavior. 2017. V. 7. № 5. e00686. <https://doi.org/10.1002/brb3.686>
15. *Barrett L.F.* Emotions are real // Emotion. 2012. V. 12. № 3. P. 413–429. <https://doi.org/10.1037/a0027555>
16. *Bazanov O.M., Vernon D.* Interpreting EEG alpha activity // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2014. V. 44. P. 94–110. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.05.007>
17. *Berkman E.T., Lieberman M.D.* Approaching the bad and avoiding the good: lateral prefrontal cortical asymmetry distinguishes between action and valence // J. Cognitive Neuroscience. 2010. V. 22. № 9. P. 1970–1979. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21317>
18. *Berntson G.G., Norman G.J., Cacioppo J.T.* Laterality and Evaluative Bivalence: A Neuroevolutionary Perspective // Emotion Review. 2011. V. 3. № 3. P. 344–346. <https://doi.org/10.1177/1754073911402401>

19. *Bismark A.W., Moreno F.A., Stewart J.L. et al.* Polymorphisms of the HTR1a allele are linked to frontal brain electrical asymmetry // *Biological Psychology*. 2010. V. 83. № 2. P. 153–158.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.12.002>
20. *Blackhart G.C., Kline J.P., Donohue K.F. et al.* Affective responses to EEG preparation and their link to resting anterior EEG asymmetry // *Personality and Individual Differences*. 2002. V. 32. № 1. P. 167–174.  
[https://doi.org/10.1016/S0191-8869\(01\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0191-8869(01)00015-0)
21. *Brooker R.J., Canen M.J., Davidson R.J., Goldsmith H.H.* Short- and long-term stability of alpha asymmetry in infants: Baseline and affective measures // *Psychophysiology*. 2017. V. 54. № 8. P. 1100–1109.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12866>
22. *Brookshire G., Casasanto D.* Motivation and motor control: hemispheric specialization for approach motivation reverses with handedness // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 4. e36036.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036036>
23. *Buss K.A., Schumacher J.R., Dolski I. et al.* Right frontal brain activity, cortisol, and withdrawal behavior in 6-month-old infants // *Behavioral Neuroscience*. 2003. V. 117. № 1. P. 11–20.  
<https://doi.org/10.1037//0735-7044.117.1.11>
24. *Cacioppo J.T.* Feelings and emotions: roles for electrophysiological markers // *Biological Psychology*. 2004. V. 67. № 1–2. P. 235–243.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.009>
25. *Carver C.S.* Impulse and constraint: perspectives from personality psychology, convergence with theory in other areas, and potential for integration // *Personality and Social Psychology Review*. 2005. V. 9. № 4. P. 312–333.  
[https://doi.org/10.1207/s15327957pspr0904\\_2](https://doi.org/10.1207/s15327957pspr0904_2)
26. *Carver C.S., Harmon-Jones E.* Anger is an approach-related affect: evidence and implications // *Psychological Bulletin*. 2009. V. 135. № 2. P. 183–204.  
<https://doi.org/10.1037/a0013965>
27. *Cerqueira J.J., Almeida O.F., Sousa N.* The stressed prefrontal cortex. Left? Right! // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2008. V. 22. № 5. P. 630–638.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.01.005>
28. *Christou A.I., Endo S., Wallis Y. et al.* Variation in serotonin transporter linked polymorphic region (5-HTTLPR) short/long genotype modulates resting frontal electroencephalography asymmetries in children // *Development and Psychopathology*. 2016. V. 28. № 1. P. 239–250.  
<https://doi.org/10.1017/S0954579415000413>
29. *Coan J.A., Allen J.J.* Frontal EEG asymmetry as a moderator and mediator of emotion // *Biological Psychology*. 2004. V. 67. № 1–2. P. 7–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.002>
30. *Coan J.A., Allen J.J.* Varieties of Emotional Experience During Voluntary Emotional Facial Expressions // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003. V. 1000. P. 375–379.  
<https://doi.org/10.1196/annals.1280.034>
31. *Coan J.A., Allen J.J., Harmon-Jones E.* Voluntary facial expression and hemispheric asymmetry over the frontal cortex // *Psychophysiology*. 2001. V. 38. № 6. P. 912–925.  
<https://doi.org/10.1111/1469-8986.3860912>
32. *Coan J.A., Allen J.J., McKnight P.E.* A capability model of individual differences in frontal EEG asymmetry // *Biological Psychology*. 2006. V. 72. № 2. P. 198–207.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.10.003>
33. *Craig A.D.* Forebrain emotional asymmetry: a neuro-anatomical basis? // *Trends in Cognitive Sciences*. 2005. V. 9. № 12. P. 566–571.  
<https://doi.org/10.1016/j.tics.2005.10.005>
34. *Davidson R.J.* Affective neuroscience and psychophysiology: toward a synthesis // *Psychophysiology*. 2003. V. 40. № 5. P. 655–665.  
<https://doi.org/10.1111/1469-8986.00067>
35. *Davidson R.J.* Affective style and affective disorders: Perspectives from affective neuroscience. *Cognition and Emotion*. 1998. V. 12. № 3. P. 307–330.  
<https://doi.org/10.1080/026999398379628>
36. *Davidson R.J.* Affective style, psychopathology, and resilience: brain mechanisms and plasticity // *American Psychologist*. 2000. V. 55. № 11. P. 1196–1214.  
<https://doi.org/10.1037//0003-066x.55.11.1196>
37. *Davidson R.J.* Anterior cerebral asymmetry and the nature of emotion // *Brain and Cognition*. 1992. V. 20. № 1. P. 125–151.  
[https://doi.org/10.1016/0278-2626\(92\)90065-t](https://doi.org/10.1016/0278-2626(92)90065-t)
38. *Davidson R.J.* Anterior electrophysiological asymmetries, emotion, and depression: conceptual and methodological conundrums // *Psychophysiology*. 1998. V. 35. № 5. P. 607–614.  
<https://doi.org/10.1017/s0048577298000134>
39. *Davidson R.J.* Asymmetric brain function, affective style, and psychopathology: The role of early experience and plasticity // *Development and Psychopathology*. 1994. V. 6. № 4. P. 741–758.  
<https://doi.org/10.1017/S0954579400004764>
40. *Davidson R.J.* Cerebral asymmetry and emotion: Conceptual and methodological conundrums // *Cognition and Emotion*. 1993. V. 7. № 1. P. 115–138.  
<https://doi.org/10.1080/02699939308409180>
41. *Davidson R.J.* EEG measures of cerebral asymmetry: conceptual and methodological issues // *International J. Neuroscience*. 1988. V. 39. № 1–2. P. 71–89.  
<https://doi.org/10.3109/00207458808985694>
42. *Davidson R.J.* Emotion and Affective Style: Hemispheric Substrates // *Psychological Science*. 1992. V. 3. № 1. P. 39–43.  
<https://doi.org/10.1111/j.1467-9280.1992.tb00254.x>
43. *Davidson R.J.* Parsing affective space: Perspectives from neuropsychology and psychophysiology // *Neuropsychology*. 1993. V. 7. № 4. P. 464–475.  
<https://doi.org/10.1037/0894-4105.7.4.464>
44. *Davidson R.J.* Toward a biology of personality and emotion // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001. V. 935. P. 191–207.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03481.x>
45. *Davidson R.J.* Well-being and affective style: neural substrates and biobehavioural correlates // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. 2004. V. 359. № 1449. P. 1395–1411.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1510>

46. Davidson R.J. What does the prefrontal cortex “do” in affect: perspectives on frontal EEG asymmetry research // *Biological Psychology*. 2004. V. 67. № 1–2. P. 219–233.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.008>
47. Davidson R.J., Coe C.C., Dolski I., Donzella B. Individual Differences in Prefrontal Activation Asymmetry Predict Natural Killer Cell Activity at Rest and in Response to Challenge // *Brain, Behavior, and Immunity*. 1999. V. 13. № 2. P. 93–108.  
<https://doi.org/10.1006/brbi.1999.0557>
48. Davidson R.J., Fox N.A. Asymmetrical brain activity discriminates between positive and negative affective stimuli in human infants // *Science*. 1982. V. 218. № 4578. P. 1235–1237.  
<https://doi.org/10.1126/science.7146906>
49. Davidson R.J., Irwin W. The functional neuroanatomy of emotion and affective style // *Trends in Cognitive Sciences*. 1999. V. 3. № 1. P. 11–21.  
[https://doi.org/10.1016/s1364-6613\(98\)01265-0](https://doi.org/10.1016/s1364-6613(98)01265-0)
50. Davidson R.J., Jackson D.C., Kalin N.H. Emotion, Plasticity, Context, and Regulation: Perspectives From Affective Neuroscience // *Psychological Bulletin*. 2000. V. 126. № 6. P. 890–909.  
<https://doi.org/10.1037/0033-2909.126.6.890>
51. Davidson R.J., Kabat-Zinn J., Schumacher J. et al. Alterations in brain and immune function produced by mindfulness meditation // *Psychosomatic Medicine*. 2003. V. 65. № 4. P. 564–570.  
<https://doi.org/10.1097/01.psy.0000077505.67574.e3>
52. Davidson R.J., Kalin N.H., Shelton S.E. Lateralized response to diazepam predicts temperamental style in rhesus monkeys // *Behavioral Neuroscience*. 1993. V. 107. № 6. P. 1106–1110.  
<https://doi.org/10.1037//0735-7044.107.6.1106>
53. Davidson R.J., Schwartz G.E., Saron C. et al. Frontal versus parietal EEG asymmetry during positive and negative affect // *Psychophysiology*. 1979. V. 16. P. 202–203.
54. Davidson R.J., Sutton S.K. Affective neuroscience: the emergence of a discipline // *Current Opinion in Neurobiology*. 1995. V. 5. № 2. P. 217–224.  
[https://doi.org/10.1016/0959-4388\(95\)80029-8](https://doi.org/10.1016/0959-4388(95)80029-8)
55. Dawson G. Frontal electroencephalographic correlates of individual differences in emotion expression in infants: A brain systems perspective on emotion // *Monographs of the Society for Research in Child Development*. 1994. V. 59. № 2–3. P. 135–151.  
<https://doi.org/10.2307/1166142>
56. Demaree H.A., Everhart D.E., Youngstrom E.A., Harrison D.W. Brain lateralization of emotional processing: historical roots and a future incorporating “dominance” // *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*. 2005. V. 4. № 1. P. 3–20.  
<https://doi.org/10.1177/1534582305276837>
57. Duan H., Fang H., Zhang Y. et al. Associations between cortisol awakening response and resting electroencephalograph asymmetry // *PeerJ*. 2019. V. 7. e7059.  
<https://doi.org/10.7717/peerj.7059>
58. Düsing R., Tops M., Radtke E.L. et al. Relative frontal brain asymmetry and cortisol release after social stress: The role of action orientation // *Biological Psychology*. 2016. V. 115. P. 86–93.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2016.01.012>
59. Field T., Diego M., Hernandez-Reif M. et al. Relative right versus left frontal EEG in neonates // *Developmental Psychobiology*. 2002. V. 41. № 2. P. 147–155.  
<https://doi.org/10.1002/dev.10061>
60. Foster P.S., Harrison D.W. Magnitude of cerebral asymmetry at rest: covariation with baseline cardiovascular activity // *Brain and Cognition*. 2006. V. 61. № 3. P. 286–297.  
<https://doi.org/10.1016/j.bandc.2006.02.004>
61. Fox N.A. If it’s not left, it’s right. Electroencephalograph asymmetry and the development of emotion // *American Psychologist*. 1991. V. 46. № 8. P. 863–872.  
<https://doi.org/10.1037//0003-066x.46.8.863>
62. Fox N.A., Bell M.A., Jones N.A. Individual differences in response to Stress and Cerebral Asymmetry // *Developmental Neuropsychology*. 1992. V. 8. № 2–3. P. 161–184.  
<https://doi.org/10.1080/87565649209540523>
63. Fox N.A., Henderson H.A., Marshall P.J. et al. Behavioral inhibition: linking biology and behavior within a developmental framework // *Annual Review of Psychology*. 2005. V. 56. P. 235–262.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.141532>
64. Fox N.A., Henderson H.A., Rubin K.H. et al. Continuity and discontinuity of behavioral inhibition and exuberance: psychophysiological and behavioral influences across the first four years of life // *Child Development*. 2001. V. 72. № 1. P. 1–21.  
<https://doi.org/10.1111/1467-8624.00262>
65. Gable P.A., Harmon-Jones E. Trait behavioral approach sensitivity (BAS) relates to early (<150 ms) electrocortical responses to appetitive stimuli // *Social Cognitive and Affective Neuroscience*. 2013. V. 8. № 7. P. 795–798.  
<https://doi.org/10.1093/scan/nns072>
66. Gable P.A., Neal L.B., Threadgill A.H. Regulatory behavior and frontal activity: Considering the role of revised-BIS in relative right frontal asymmetry // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12910>
67. Gao Y., Tuvblad C., Raine A. et al. Genetic and environmental influences on frontal EEG asymmetry and alpha power in 9–10-year-old twins // *Psychophysiology*. 2009. V. 46. № 4. P. 787–796.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2009.00815.x>
68. Goldman R.I., Stern J.M., Engel J.Jr., Cohen M.S. Simultaneous EEG and fMRI of the alpha rhythm // *Neuroreport*. 2002. V. 13. № 18. P. 2487–2492.  
<https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000047685.08940.d0>
69. Goldstein B.L., Shankman S.A., Kujawa A. Positive and Negative Emotionality at Age 3 Predicts Change in Frontal EEG Asymmetry across Early Childhood // *J. Abnormal Child Psychology*. 2019. V. 47. № 2. P. 209–219.  
<https://doi.org/10.1007/s10802-018-0433-7>
70. Gorka S.M., Phan K.L., Shankman S.A. Convergence of EEG and fMRI measures of reward anticipation // *Biological Psychology*. 2015. V. 112. P. 12–19.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2015.09.007>

71. *Gray J.A.* The psychophysiological basis of introversion-extraversion // *Behaviour Research and Therapy*. 1970. V. 8. № 3. P. 249–266.  
[https://doi.org/10.1016/0005-7967\(70\)90069-0](https://doi.org/10.1016/0005-7967(70)90069-0)
72. *Gray J.R., Braver T.S., Raichle M.E.* Integration of Emotion and Cognition in the Lateral Prefrontal Cortex // *PNAS*. 2002. V. 99. № 6. P. 4115–4120.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.062381899>
73. *Grimshaw G.M., Carmel D.* An asymmetric inhibition model of hemispheric differences in emotional processing // *Frontiers in Psychology*. 2014. V. 5. e489.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00489>
74. *Grissmann S., Faller J., Scharinger C. et al.* Electroencephalography Based Analysis of Working Memory Load and Affective Valence in an N-back Task with Emotional Stimuli // *Frontiers in Human Neuroscience*. 2017. V. 11. e616.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00616>
75. *Grissmann S., Zander T.O., Faller J. et al.* Affective Aspects of Perceived Loss of Control and Potential Implications for Brain-Computer Interfaces // *Frontiers in Human Neuroscience*. 2017. V. 11. e370.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00370>
76. *Hagemann D.* Individual differences in anterior EEG asymmetry: methodological problems and solutions // *Biological Psychology*. 2004. V. 67. № 1–2. P. 157–182.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.006>
77. *Hagemann D., Hewig J., Seifert J. et al.* The latent state-trait structure of resting EEG asymmetry: replication and extension // *Psychophysiology*. 2005. V. 42. № 6. P. 740–752.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2005.00367.x>
78. *Hagemann D., Naumann E.* The effects of ocular artifacts on (lateralized) broadband power in the EEG // *Clinical Neurophysiology*. 2001. V. 112. № 2. P. 215–231.  
[https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(00\)00541-1](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(00)00541-1)
79. *Hagemann D., Naumann E., Thayer J.F.* The quest for the EEG reference revisited: a glance from brain asymmetry research // *Psychophysiology*. 2001. V. 38. № 5. P. 847–857.  
<https://doi.org/10.1111/1469-8986.3850847>
80. *Hagemann D., Naumann E., Thayer J.F., Bartussek D.* Does resting electroencephalograph asymmetry reflect a trait? an application of latent state-trait theory // *J. Personality and Social Psychology*. 2002. V. 82. № 4. P. 619–641.  
<https://doi.org/10.1037/0022-3514.82.4.619>
81. *Harmon-Jones C., Schmeichel B., Mennitt E., Harmon-Jones E.* The expression of determination: similarities between anger and approach-related positive affect // *J. Personality and Social Psychology*. 2011. V. 100. № 1. P. 172–181.  
<https://doi.org/10.1037/a0020966>
82. *Harmon-Jones E.* Clarifying the emotive functions of asymmetrical frontal cortical activity // *Psychophysiology*. 2003. V. 40. № 6. P. 838–848.  
<https://doi.org/10.1111/1469-8986.00121>
83. *Harmon-Jones E.* Contributions from research on anger and cognitive dissonance to understanding the motivational functions of asymmetrical frontal brain activity // *Biological Psychology*. 2004. V. 67. № 1–2. P. 51–76.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.03.003>
84. *Harmon-Jones E.* On the relationship of frontal brain activity and anger: Examining the role of attitude toward anger // *Cognition and Emotion*. 2004. V. 18. № 3. P. 337–361.  
<https://doi.org/10.1080/02699930341000059>
85. *Harmon-Jones E., Allen J.J.* Behavioral activation sensitivity and resting frontal EEG asymmetry: covariation of putative indicators related to risk for mood disorders // *J. Abnormal Psychology*. 1997. V. 106. № 1. P. 159–163.  
<https://doi.org/10.1037//0021-843x.106.1.159>
86. *Harmon-Jones E., Gable P.A.* On the role of asymmetric frontal cortical activity in approach and withdrawal motivation: An updated review of the evidence // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12879>
87. *Harmon-Jones E., Gable P.A., Peterson C.K.* The role of asymmetric frontal cortical activity in emotion-related phenomena: a review and update // *Biological Psychology*. 2010. V. 84. № 3. P. 451–462.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.08.010>
88. *Harmon-Jones E., Harmon-Jones C., Amodio D.M., Gable P.A.* Attitudes toward emotions // *J. Personality and Social Psychology*. 2011. V. 101. № 6. P. 1332–1350.  
<https://doi.org/10.1037/a0024951>
89. *Harmon-Jones E., Peterson C.K., Harris C.R.* Jealousy: novel methods and neural correlates // *Emotion*. 2009. V. 9. № 1. P. 113–117.  
<https://doi.org/10.1037/a0014117>
90. *Harmon-Jones E., Sigelman J., Bohlig A., Harmon-Jones C.* Anger, coping, and frontal cortical activity: The effect of coping potential on anger-induced left frontal activity // *Cognition and Emotion*. 2003. V. 17. № 1. P. 1–24.  
<https://doi.org/10.1080/02699930302278>
91. *Harmon-Jones E., Vaughn-Scott K., Mohr S. et al.* The effect of manipulated sympathy and anger on left and right frontal cortical activity // *Emotion*. 2004. V. 4. № 1. P. 95–101.  
<https://doi.org/10.1037/1528-3542.4.1.95>
92. *Hewig J.* Intentionality in frontal asymmetry research // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12852>
93. *Hewig J., Hagemann D., Seifert J. et al.* On the selective relation of frontal cortical asymmetry and anger-out versus anger-control // *J. Personality and Social Psychology*. 2004. V. 87. № 6. P. 926–939.  
<https://doi.org/10.1037/0022-3514.87.6.926>
94. *Hewig J., Hagemann D., Seifert J. et al.* The relation of cortical activity and BIS/BAS on the trait level // *Biological Psychology*. 2006. V. 71. № 1. P. 42–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2005.01.006>
95. *Hewig J., Schlotz W., Gerhards F. et al.* Associations of the cortisol awakening response (CAR) with cortical activation asymmetry during the course of an exam stress period // *Psychoneuroendocrinology*. 2008. V. 33. № 1. P. 83–91.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.10.004>

96. Hill K.E., Neo W.S., Hernandez A. et al. Intergenerational Transmission of Frontal Alpha Asymmetry Among Mother-Infant Dyads // *Biological Psychiatry. Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*. 2020. V. 5. № 4. P. 420–428.  
<https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2019.12.003>
97. Hostinar C.E., Davidson R.J., Graham E.K. et al. Frontal brain asymmetry, childhood maltreatment, and low-grade inflammation at midlife // *Psychoneuroendocrinology*. 2017. V. 75. P. 152–163.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.10.026>
98. Howarth G.Z., Fettig N.B., Curby T.W., Bell M.A. Frontal Electroencephalogram Asymmetry and Temperament Across Infancy and Early Childhood: An Exploration of Stability and Bidirectional Relations // *Child Development*. 2016. V. 87. № 2. P. 465–476.  
<https://doi.org/10.1111/cdev.12466>
99. Hwang R.J., Chen L.F., Yeh T.C. et al. The resting frontal alpha asymmetry across the menstrual cycle: a magnetoencephalographic study // *Hormones and Behavior*. 2008. V. 54. № 1. P. 28–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.11.007>
100. Huang Y., Zhou R., Cui H. et al. Variations in resting frontal alpha asymmetry between high- and low-neuroticism females across the menstrual cycle // *Psychophysiology*. 2015. V. 52. № 2. P. 182–191.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12301>
101. Huffmeijer R., Alink L.R., Tops M. et al. Asymmetric frontal brain activity and parental rejection predict altruistic behavior: moderation of oxytocin effects // *Cognitive, Affective, and Behavioral Neuroscience*. 2012. V. 12. № 2. P. 382–392.  
<https://doi.org/10.3758/s13415-011-0082-6>
102. Huster R.J., Stevens S., Gerlach A.L., Rist F. A spectralanalytic approach to emotional responses evoked through picture presentation // *International Journal of Psychophysiology*. 2009. V. 72. № 2. P. 212–216.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2008>
103. Jones N.A., Field T., Davalos M., Pickens J. EEG stability in infants/children of depressed mothers // *Child Psychiatry and Human Development*. 1997. V. 28. № 2. P. 59–70.  
<https://doi.org/10.1023/a:1025197101496>
104. Kalin N.H., Larson C., Shelton S.E., Davidson R.J. Asymmetric frontal brain activity, cortisol, and behavior associated with fearful temperament in rhesus monkeys // *Behavioral Neuroscience*. 1998. V. 112. № 2. P. 286–292.  
<https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.2.286>
105. Kang D.H., Davidson R.J., Coe C.L. et al. Frontal Brain Asymmetry and Immune Function // *Behavioral Neuroscience*. 1991. V. 105. № 6. P. 860–869.  
<https://doi.org/10.1037//0735-7044.105.6.860>
106. Katz A.C., Sarapas C., Bishop J.R. et al. The mediating effect of prefrontal asymmetry on the relationship between the COMT Val(158)Met SNP and trait consummatory positive affect // *Cognition & Emotion*. 2015. V. 29. № 5. P. 867–881.  
<https://doi.org/10.1080/02699931.2014.951030>
107. Käckenmester W., Kroencke L., Wacker J. Frontal asymmetry predicts the incentive value of perceptual information // *International J. Psychophysiology*. 2018. V. 134. P. 22–29.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2018.10.002>
108. Kelley N.J., Hortensius R., Schutter D.J.L.G., Harmon-Jones E. The relationship of approach/avoidance motivation and asymmetric frontal cortical activity: A review of studies manipulating frontal asymmetry // *International J. Psychophysiology*. 2017. V. 119. P. 19–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2017.03.001>
109. Klimesch W., Sauseng P., Hanslmayr S. EEG Alpha Oscillations: The Inhibition-Timing Hypothesis // *Brain Research Reviews*. 2007. V. 53. № 1. P. 63–88.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.06.003>
110. Kline J.P., Allen J.J.B., Schwartz G.E. Is left frontal brain activation in defensiveness gender specific? // *J. Abnormal Psychology*. 1998. V. 107. № 1. P. 149–153.  
<https://doi.org/10.1037/0021-843X.107.1.149>
111. Kline J.P., Blackhart G.C., Joiner T.E. Sex, lie scales, and electrode caps: an interpersonal context for defensiveness and anterior electroencephalographic asymmetry // *Personality and Individual Differences*. 2002. V. 33. № 3. P. 459–478.  
[https://doi.org/10.1016/S0191-8869\(01\)00167-2](https://doi.org/10.1016/S0191-8869(01)00167-2)
112. Kline J.P., Blackhart G.C., Williams W.C. Anterior EEG Asymmetries and Opponent Process Theory // *International J. Psychophysiology*. 2007. V. 63. № 3. P. 302–307.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2006.12.003>
113. Koller-Schlaud K., Querbach J., Behr J. et al. Test-Retest Reliability of Frontal and Parietal Alpha Asymmetry during Presentation of Emotional Face Stimuli in Healthy Subjects // *Neuropsychobiology*. 2020. V. 79. № 6.  
<https://doi.org/10.1159/000505783>
114. Kop W.J., Synowski S.J., Newell M.E. et al. Autonomic nervous system reactivity to positive and negative mood induction: The role of acute psychological responses and frontal electrocortical activity // *Biological Psychology*. 2011. V. 86. № 3. P. 230–238.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2010.12.003>
115. Koslov K., Mendes W.B., Pajtas P.E., Pizzagalli D.A. Greater left resting intracortical activity as a buffer to social threat // *Psychological Science*. 2011. V. 22. № 5. P. 641–649.  
<https://doi.org/10.1177/0956797611403156>
116. Lahat A., Tang A., Tanaka M. et al. Longitudinal Associations Among Child Maltreatment, Resting Frontal Electroencephalogram Asymmetry, and Adolescent Shyness // *Child Development*. 2018. V. 89. № 3. P. 746–757.  
<https://doi.org/10.1111/cdev.13060>
117. Lang P.J., Bradley M.M., Cuthbert B.N. Emotion, attention, and the startle reflex // *Psychological Review*. 1990. V. 97. № 3. P. 377–395.  
<https://doi.org/10.1037/0033-295X.97.3.377>
118. Laufs H., Kleinschmidt A., Beyerle A. et al. EEG-correlated fMRI of human alpha activity // *Neuroimage*. 2003. V. 19. № 4. P. 1463–1476.  
[https://doi.org/10.1016/s1053-8119\(03\)00286-6](https://doi.org/10.1016/s1053-8119(03)00286-6)
119. Lee T.W., Yu Y.W., Hong C.J. et al. The influence of serotonin transporter polymorphisms on cortical activity: a resting EEG study // *BMC Neuroscience*. 2011.

- V. 12. e33.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2202-12-33>
120. Lewis R.S., Weekes N.Y., Wang T.H. The effect of a naturalistic stressor on frontal EEG asymmetry, stress, and health // *Biological Psychology*. 2007. V. 75. № 3. P. 239–247.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.03.004>
121. Li D., Wang C., Yin Q. et al. Frontal Cortical Asymmetry May Partially Mediate the Influence of Social Power on Anger Expression // *Frontiers in Psychology*. 2016. V. 7. e73.  
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2016.00073>
122. Lindquist K.A., Satpute A.B., Wager T.D. et al. The Brain Basis of Positive and Negative Affect: Evidence from a Meta-Analysis of the Human Neuroimaging Literature // *Cerebral Cortex*. 2016. V. 26. № 5. P. 1910–1922.  
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhv001>
123. Liu L., Yang M., Han Z. et al. Frontal EEG Lateralization Predicts Individuals' Emotional Flexibility // *Scientia Sinica Vitae*. 2014. V. 44. № 6. P. 614–622.  
<https://doi.org/10.1360/N052013-00061>
124. Liu Y.-J., Yu M., Zhao G. et al. Real-Time Movie-Induced Discrete Emotion Recognition from EEG Signals // *IEEE Transactions on Affective Computing*. 2018. V. 9. № 4. P. 550–562.  
<https://doi.org/10.1109/TAFFC.2017.2660485>
125. Master S.L., Amodio D.M., Stanton A.L. et al. Neurobiological correlates of coping through emotional approach // *Brain, Behavior, and Immunity*. 2009. V. 23. № 1. P. 27–35.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.04.007>
126. Mathewson K.J., Hashemi A., Sheng B. et al. Regional electroencephalogram (EEG) alpha power and asymmetry in older adults: a study of short-term test-retest reliability // *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2015. V. 7. e177.  
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00177>
127. McLaughlin K.A., Fox N.A., Zeanah C.H., Nelson C.A. Adverse rearing environments and neural development in children: the development of frontal electroencephalogram asymmetry // *Biological Psychiatry*. 2011. V. 70. № 11. P. 1008–1015.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2011.08.006>
128. Meyers M.B., Smith B.D. Cerebral processing of non-verbal affective stimuli: differential effects of cognitive and affective sets on hemispheric asymmetry // *Biological Psychology*. 1987. V. 24. № 1. P. 67–84.  
[https://doi.org/10.1016/0301-0511\(87\)90100-1](https://doi.org/10.1016/0301-0511(87)90100-1)
129. Miller G.A., Crocker L.D., Spielberg J.M. et al. Issues in localization of brain function: The case of lateralized frontal cortex in cognition, emotion, and psychopathology // *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 2013. V. 7. e2.  
<https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00002>
130. Moynihan J.A., Chapman B.P., Klorman R. et al. Mindfulness-Based Stress Reduction for Older Adults: Effects on Executive Function, Frontal Alpha Asymmetry and Immune Function // *Neuropsychobiology*. 2013. V. 68. № 1.  
<https://doi.org/10.1159/000350949>
131. Müller B.C., Kühn-Popp N., Meinhardt J. et al. Long-term stability in children's frontal EEG alpha asymmetry between 14-months and 83-months // *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2015. V. 41. P. 110–114.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.01.002>
132. Murphy F.C., Nimmo-Smith I., Lawrence A.D. Functional neuroanatomy of emotions: a meta-analysis // *Cognitive, Affective, and Behavioral Neuroscience*. 2003. V. 3. № 3. P. 207–233.  
<https://doi.org/10.3758/cabn.3.3.207>
133. Myslobodsky M.S., Coppola R., Bar-Ziv J. et al. EEG asymmetries may be affected by cranial and brain parenchymal asymmetries // *Brain Topography*. 1989. V. 1. № 4. P. 221–228.
134. Nash K., Inzlicht M., McGregor I. Approach-related left prefrontal EEG asymmetry predicts muted error-related negativity // *Biological Psychology*. 2012. V. 91. № 1. P. 96–102.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.05.005>
135. Oakes T.R., Pizzagalli D.A., Hendrick A.M. et al. Functional coupling of simultaneous electrical and metabolic activity in the human brain // *Human Brain Mapping*. 2004. V. 21. № 4. P. 257–270.  
<https://doi.org/10.1002/hbm.20004>
136. Palmiero M., Piccardi L. Frontal EEG Asymmetry of Mood: A Mini-Review // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2017. V. 11. e224.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00224>
137. Papousek I., Reiser E.M., Schulter G. et al. Serotonin transporter genotype (5-HTTLPR) and electrocortical responses indicating the sensitivity to negative emotional cues // *Emotion*. 2013. V. 13. № 6. P. 1173–1181.  
<https://doi.org/10.1037/a0033997>
138. Papousek I., Schulter G. Covariations of EEG asymmetries and emotional states indicate that activity at frontopolar locations is particularly affected by state factors // *Psychophysiology*. 2002. V. 39. № 3. P. 350–360.  
<https://doi.org/10.1017/s0048577201393083>
139. Papousek I., Schulter G. Different temporal stability and partial independence of EEG asymmetries from different locations: Implications for laterality research // *International J. Neuroscience*. 1998. V. 93. № 1–2. P. 87–100. doi.org/.  
<https://doi.org/10.3109/00207459808986415>
140. Papousek I., Schulter G., Lang B. Effects of emotionally contagious films on changes in hemisphere-specific cognitive performance // *Emotion*. 2009. V. 9. № 4. P. 510–519.  
<https://doi.org/10.1037/a0016299>
141. Papousek I., Schulter G., Weiss E.M. et al. Frontal brain asymmetry and transient cardiovascular responses to the perception of humor // *Biological Psychology*. 2013. V. 93. № 1. P. 114–121.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.12.004>
142. Papousek I., Schulter G. Manipulation of frontal brain asymmetry by cognitive tasks // *Brain and Cognition*. 2004. V. 54. № 1. P. 43–51.  
[https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(03\)00258-6](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(03)00258-6)

143. *Papousek I., Weiss E.M., Schulter G. et al.* Prefrontal EEG alpha asymmetry changes while observing disaster happening to other people: cardiac correlates and prediction of emotional impact // *Biological Psychology*. 2014. V. 103. P. 184–194. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.09.001>
144. *Pauls C.A., Wacker J., Crost N.W.* The Two Components of Social Desirability and their Relations to Resting Frontal Brain Asymmetry // *J. Individual Differences*. 2005. V. 26. P. 29–42. <https://doi.org/10.1027/1614-0001.26.1.29>
145. *Peeters G.* The positive-negative asymmetry: On cognitive consistency and positivity bias // *European J. Social Psychology*. 1971. V. 1. № 4. P. 455–474. <https://doi.org/10.1002/ejsp.2420010405>
146. *Peterson C.K., Harmon-Jones E.* Circadian and seasonal variability of resting frontal EEG asymmetry // *Biological Psychology*. 2009. V. 80. № 3. P. 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2008.11.002>
147. *Peterson C.K., Shackman A.J., Harmon-Jones E.* The role of asymmetrical frontal cortical activity in aggression // *Psychophysiology*. 2008. V. 45. № 1. P. 86–92. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2007.00597.x>
148. *Pfurtscheller G., Stancák A.Jr., Neuper C.* Event-related synchronization (ERS) in the alpha band – an electrophysiological correlate of cortical idling: a review // *International J. Psychophysiology*. 1996. V. 24. № 1–2. P. 39–46. [https://doi.org/10.1016/s0167-8760\(96\)00066-9](https://doi.org/10.1016/s0167-8760(96)00066-9)
149. *Pitchford B., Arnell K.M.* Self-control and its influence on global/local processing: An investigation of the role of frontal alpha asymmetry and dispositional approach tendencies // *Attention, Perception and Psychophysics*. 2019. V. 81. № 1. P. 173–187. <https://doi.org/10.3758/s13414-018-1610-z>
150. *Poole K.L., Santesso D.L., Van Lieshout R.J., Schmidt L.A.* Trajectories of Frontal Brain Activity and Socio-Emotional Development in Children // *Developmental Psychobiology*. 2018. V. 60. № 4. P. 353–363. <https://doi.org/10.1002/dev.21620>
151. *Price T.F., Hortensius R., Harmon-Jones E.* Neural and behavioral associations of manipulated determination facial expressions // *Biological Psychology*. 2013. V. 94. № 1. P. 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2013.06.001>
152. *Quaedflieg C.W., Meyer T., Smulders F.T., Smeets T.* The functional role of individual-alpha based frontal asymmetry in stress responding // *Biological Psychology*. 2015. V. 104. P. 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.11.014>
153. *Quirk G.J., Beer J.S.* Prefrontal involvement in the regulation of emotion: convergence of rat and human studies // *Current Opinion in Neurobiology*. 2006. V. 16. № 6. P. 723–727. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.07.004>
154. *Reznik S.J., Allen J.J.B.* Frontal asymmetry as a mediator and moderator of emotion: An updated review // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1. <https://doi.org/10.1111/psyp.12965>
155. *Rilling J.K., Winslow J.T., O'Brien D. et al.* Neural correlates of maternal separation in rhesus monkeys // *Biological Psychiatry*. 2001. V. 49. № 2. P. 146–157. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(00\)00977-x](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)00977-x)
156. *Rohlf's P., Ramirez J.M.* Aggression and brain asymmetries: A theoretical review // *Aggression and Violent Behavior*. 2006. V. 11. № 3. P. 283–297. <https://doi.org/10.1016/j.avb.2005.09.001>
157. *Rosenkranz M.A., Jackson D.C., Dalton K.M. et al.* Affective Style and in Vivo Immune Response: Neurobehavioral Mechanisms // *Proceedings of National Academy of Sciences*. 2003. V. 100. № 19. P. 11148–11152. <https://doi.org/10.1073/pnas.1534743100>
158. *Roth S., Cohen L.J.* Approach, avoidance, and coping with stress // *American Psychologist*. 1986. V. 41. № 7. P. 813–819. <https://doi.org/10.1037//0003-066x.41.7.813>
159. *Sackeim H.A., Greenberg M.S., Weiman A.L. et al.* Hemispheric asymmetry in the expression of positive and negative emotions. Neurologic evidence // *Archives of Neurology*. 1982. V. 39. № 4. P. 210–218. <https://doi.org/10.1001/archneur.1982.00510160016003>
160. *Saletu B., Brandstätter N., Metka M. et al.* Double-blind, placebo-controlled, hormonal, syndromal and EEG mapping studies with transdermal oestradiol therapy in menopausal depression // *Psychopharmacology*. 1995. V. 122. № 4. P. 321–329. <https://doi.org/10.1007/bf02246261>
161. *Schaffer C.E., Davidson R.J., Saron C.* Frontal and parietal electroencephalogram asymmetry in depressed and nondepressed subjects // *Biological Psychiatry*. 1983. V. 18. № 7. P. 753–762.
162. *Schmid P.C., Hackel L.M., Jasperse L., Amodio D.M.* Frontal cortical effects on feedback processing and reinforcement learning: Relation of EEG asymmetry with the feedback-related negativity and behavior // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1. <https://doi.org/10.1111/psyp.12911>
163. *Schmidt L.A.* Patterns of second-by-second resting frontal brain (EEG) asymmetry and their relation to heart rate and temperament in 9-month-old human infants // *Personality and Individual Differences*. 2008. V. 44. № 1. P. 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.paid.2007.08.001>
164. *Schmidt L.A., Fox N.A., Goldberg M.C. et al.* Effects of Acute Prednisone Administration on Memory, Attention and Emotion in Healthy Human Adults // *Psychoneuroendocrinology*. 1999. V. 24. № 4. P. 461–483. [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(99\)00007-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(99)00007-4)
165. *Schmidt L.A., Fox N.A., Perez-Edgar K., Hamer D.H.* Linking gene, brain, and behavior: DRD4, frontal asymmetry, and temperament // *Psychological Science*. 2009. V. 20. № 7. P. 831–837. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9280.2009.02374.x>
166. *Schmidt L.A., Miskovic V.* A New Perspective on Temperamental Shyness: Differential Susceptibility to Endo-environmental Influences // *Social and Personality Psychology Compass*. 2013. V. 7. № 3. P. 141–157. <https://doi.org/10.1111/spc3.12014>
167. *Schneider M., Chau L., Mohamadpour M. et al.* EEG asymmetry and BIS/BAS among healthy adolescents //

- Biological Psychology. 2016. V. 120. P. 142–148.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2016.09.004>
168. *Shackman A.J., McMenamin B.W., Maxwell J.S. et al.* Identifying robust and sensitive frequency bands for interrogating neural oscillations // *NeuroImage*. 2010. V. 51. P. 1319–1333.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.03.037>
169. *Shields G.S., Moons W.G.* Avoidance-related EEG asymmetry predicts circulating interleukin-6 // *Emotion*. 2016. V. 16. № 2. P. 150–154.  
<https://doi.org/10.1037/emo0000120>
170. *Silberman E.K., Weingartner H.* Hemispheric lateralization of functions related to emotion // *Brain and Cognition*. 1986. V. 5. № 3. P. 322–353.  
[https://doi.org/10.1016/0278-2626\(86\)90035-7](https://doi.org/10.1016/0278-2626(86)90035-7)
171. *Smillie L.D., Pickering A.D., Jackson C.J.* The new reinforcement sensitivity theory: implications for personality measurement // *Personality and Social Psychology Review*. 2006. V. 10. № 4. P. 320–335.  
[https://doi.org/10.1207/s15327957pspr1004\\_3](https://doi.org/10.1207/s15327957pspr1004_3)
172. *Smit D.J., Posthuma D., Boomsma D.I., De Geus E.J.* The relation between frontal EEG asymmetry and the risk for anxiety and depression // *Biological Psychology*. 2007. V. 74. № 1. P. 26–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2006.06.002>
173. *Smith E.E., Reznik S.J., Stewart J.L., Allen J.J.* Assessing and conceptualizing frontal EEG asymmetry: An updated primer on recording, processing, analyzing, and interpreting frontal alpha asymmetry // *International J. Psychophysiology*. 2017. V. 111. P. 98–114.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2016.11.005>
174. *Solis-Ortiz S., Ramos J., Arce C. et al.* EEG oscillations during menstrual cycle // *International Journal of Neuroscience*. 1994. V. 76. № 3–4. P. 279–292.  
<https://doi.org/10.3109/00207459408986010>
175. *Spielberg J.M., Stewart J.L., Levin R.L. et al.* Prefrontal Cortex, Emotion, and Approach/Withdrawal Motivation // *Social and Personality Psychology Compass*. 2008. V. 2. № 1. P. 135–153.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-9004.2007.00064.x>
176. *Stemmler G., Wacker J.* Personality, emotion, and individual differences in physiological responses // *Biological Psychology*. 2010. V. 84. № 3. P. 541–551.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2009.09.012>
177. *Stikic M., Johnson R.R., Tan V., Berka C.* EEG-based classification of positive and negative affective states // *Brain-Computer Interfaces*. 2014. V. 1. № 2.  
<https://doi.org/10.1080/2326263X.2014.912883>
178. *Sullivan R.M., Gratton A.* Relationships between stress-induced increases in medial prefrontal cortical dopamine and plasma corticosterone levels in rats: role of cerebral laterality // *Neuroscience*. 1998. V. 83. № 1. P. 81–91.  
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00370-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00370-9)
179. *Sutton S.K., Davidson R.J.* Prefrontal brain electrical asymmetry predicts the evaluation of affective stimuli // *Neuropsychologia*. 2000. V. 38. № 13. P. 1723–1733.  
[https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(00\)00076-2](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(00)00076-2)
180. *Telpaz A., Yechiam E.* Contrasting losses and gains increases the predictability of behavior by frontal EEG asymmetry // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2014. V. 8. e149.  
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00149>
181. *Tomarken A.J., Davidson R.J., Wheeler R.E., Doss R.C.* Individual differences in anterior brain asymmetry and fundamental dimensions of emotion // *J. Personality and Social Psychology*. 1992. V. 62. № 4. P. 676–687.  
<https://doi.org/10.1037//0022-3514.62.4.676>
182. *Tomarken A.J., Davidson R.J., Wheeler R.E., Kinney L.* Psychometric properties of resting anterior EEG asymmetry: temporal stability and internal consistency // *Psychophysiology*. 1992. V. 29. № 5. P. 576–592.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1992.tb02034.x>
183. *Tops M., Quirin M., Boksem M.A.S., Koole S.L.* Large-scale neural networks and the lateralization of motivation and emotion // *International J. Psychophysiology*. 2017. V. 119. P. 41–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2017.02.004>
184. *Tops M., van Peer J.M., Wester A.E. et al.* State-dependent regulation of cortical activity by cortisol: An EEG study // *Neuroscience Letters*. 2006. V. 404. № 1–2. P. 39–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.05.038>
185. *Tops M., Wijers A.A., van Staveren A.S. et al.* Acute cortisol administration modulates EEG alpha asymmetry in volunteers: relevance to depression // *Biological Psychology*. 2005. V. 69. № 2. P. 181–193.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2004.07.005>
186. *Towers D.N., Allen J.J.* A better estimate of the internal consistency reliability of frontal EEG asymmetry scores // *Psychophysiology*. 2009. V. 46. № 1. P. 132–142.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2008.00759.x>
187. *Tucker D.M.* Lateral brain function, emotion, and conceptualization // *Psychological Bulletin*. 1981. V. 89. № 1. P. 19–46.  
<https://doi.org/10.1037/0033-2909.89.1.19>
188. *Vallortigara G., Rogers L.J.* Survival with an asymmetrical brain: advantages and disadvantages of cerebral lateralization // *Behavioral and Brain Sciences*. 2005. V. 28. № 4. P. 575–589.  
<https://doi.org/10.1017/S0140525X05000105>
189. *Velo J.R., Stewart J.L., Hasler B.P. et al.* Should it matter when we record? Time of year and time of day as factors influencing frontal EEG asymmetry // *Biological Psychology*. 2012. V. 91. № 2. P. 283–291.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2012.06.010>
190. *Vuga M., Fox N.A., Cohn J.F. et al.* Long-term stability of electroencephalographic asymmetry and power in 3 to 9 year-old children // *International J. Psychophysiology*. 2008. V. 67. № 1. P. 70–77.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2007.10.007>
191. *Wacker J.* Effects of positive emotion, extraversion, and dopamine on cognitive stability-flexibility and frontal EEG asymmetry // *Psychophysiology*. 2018. V. 55. № 1.  
<https://doi.org/10.1111/psyp.12727>
192. *Wacker J., Chavanon M.L., Leue A., Stemmler G.* Is running away right? The behavioral activation-behavioral inhibition model of anterior asymmetry // *Emotion*. 2008. V. 8. № 2. P. 232–249.  
<https://doi.org/10.1037/1528-3542.8.2.232>

193. *Wacker J., Heldmann M., Stemmler G.* Separating emotion and motivational direction in fear and anger: effects on frontal asymmetry // *Emotion*. 2003. V. 3. № 2. P. 167–193.  
<https://doi.org/10.1037/1528-3542.3.2.167>
194. *Wacker J., Mueller E.M., Pizzagalli D.A. et al.* Dopamine-d2-receptor blockade reverses the association between trait approach motivation and frontal asymmetry in an approach-motivation context // *Psychological Science*. 2013. V. 24. № 4. P. 489–497.  
<https://doi.org/10.1177/0956797612458935>
195. *Wang Y., Lu J., Gu C., Hu B.* Mapping the frontal alpha asymmetry indicators of habitual emotion regulation: a data-driven approach // *Neuroreport*. 2018. V. 29. № 15. P. 1288–1292.  
<https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001109>
196. *Watson D.* Locating anger in the hierarchical structure of affect: comment on Carver and Harmon-Jones (2009) // *Psychological Bulletin*. 2009. V. 135. № 2. P. 205–208.  
<https://doi.org/10.1037/a0014413>
197. *Watson D., Wiese D., Vaidya J., Tellegen A.* The two general activation systems of affect: Structural findings, evolutionary considerations, and psychobiological evidence // *Journal of Personality and Social Psychology*. 1999. V. 76. № 5. P. 820–838.  
<https://doi.org/10.1037/0022-3514.76.5.820>
198. *Wilkowski B.M., Meier B.P.* Bring it on: angry facial expressions potentiate approach-motivated motor behavior // *J. Personality and Social Psychology*. 2010. V. 98. № 2. P. 201–210.  
<https://doi.org/10.1037/a0017992>
199. *Winegust A.K., Mathewson K.J., Schmidt L.A.* Test-retest reliability of frontal alpha electroencephalogram (EEG) and electrocardiogram (ECG) measures in adolescents: a pilot study // *International J. Neuroscience*. 2014. V. 124. № 12. P. 908–911.  
<https://doi.org/10.3109/00207454.2014.895003>
200. *Wittling W., Pflüger M.* Neuroendocrine hemisphere asymmetries: salivary cortisol secretion during lateralized viewing of emotion-related and neutral films // *Brain and Cognition*. 1990. V. 14. № 2. P. 243–265.  
[https://doi.org/10.1016/0278-2626\(90\)90032-j](https://doi.org/10.1016/0278-2626(90)90032-j)
201. *Wyczesany M., Capotosto P., Zappasodi F., Prete G.* Hemispheric asymmetries and emotions: Evidence from effective connectivity // *Neuropsychologia*. 2018. V. 121. P. 98–105.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2018.10.007>
202. *Zhang X., Bachmann P., Schilling T.M. et al.* Emotional stress regulation: The role of relative frontal alpha asymmetry in shaping the stress response // *Biological Psychology*. 2018. V. 138. P. 231–239.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2018.08.007>
203. *Zinner L.R., Brodish A.B., Devine P.G., Harmon-Jones E.* Anger and asymmetrical frontal cortical activity: Evidence for an anger–withdrawal relationship // *Cognition & Emotion*. 2008. V. 22. № 6. P. 1081–1093.  
<https://doi.org/10.1080/02699930701622961>
204. *Zotef V., Yuan H., Misaki M. et al.* Correlation between amygdala BOLD activity and frontal EEG asymmetry during real-time fMRI neurofeedback training in patients with depression // *Neuroimage Clinical*. 2016. V. 11. P. 224–238.  
<https://doi.org/10.1016/j.nicl.2016.02.003>

## A Single Phenomenon with a Multitude of Interpretations: EEG Frontal Alpha Asymmetry in Healthy People. Part I

M. E. Melnikov\*

*Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Institute of Molecular Biology and Biophysics,  
Novosibirsk, Russia*

\*e-mail: [mikhail-melnikov@mail.ru](mailto:mikhail-melnikov@mail.ru)

**Abstract**—EEG frontal alpha asymmetry, an index of relative left/right prefrontal cortex activity is an important biomarker of the human emotional and motivational state. This review covers methods of signal acquisition and its reliability, and also briefly discusses systemic links within the prefrontal cortices and between prefrontal cortex and amygdala, hippocampus, cingulate, and insula. Phylogenetic roots of prefrontal cortex asymmetry, its heritability and links to endocrine and immune features are reviewed. The key approaches to interpretation of the index are formulated and the link between the body of the data collected in the field and psychological theories of emotions and motivation is demonstrated.

**Keywords:** electroencephalography (EEG), alpha rhythm, interhemispheric asymmetry, emotions, motivation, prefrontal cortex

УДК 616.98;615.277

## NAMPT, NAD, КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ

© 2021 г. Б. И. Кузник<sup>a, b</sup>, С. О. Давыдов<sup>a, b</sup>, Н. И. Чалисова<sup>c, d</sup>,  
Н. С. Линькова<sup>e, f, g</sup>, О. М. Ивко<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Кафедра нормальной физиологии, ФГБОУ ВО “Читинская государственная медицинская академия” МЗ РФ,  
Чита, Россия

<sup>b</sup>Инновационная клиника “Академия здоровья”, Чита, Россия

<sup>c</sup>Отдел биogerонтологии АНО НИЦ “Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии”,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>d</sup>Группа пептидной регуляции старения Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>e</sup>Кафедра терапии, гериатрии и антивозрастной медицины академии постдипломного образования  
ФГБУ “Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи  
и медицинских технологий ФМБА”, Москва, Россия

<sup>f</sup>Лаборатория “Проблем старения” ФГАОУ ВО “Белгородский государственный  
национальный исследовательский университет”, Белгород, Россия

\*e-mail: miayu@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.12.2020 г.

После доработки 26.12.2020 г.

Принята к публикации 29.12.2020 г.

В связи с увеличением продолжительности жизни актуальным направлением молекулярной медицины является поиск новых подходов к лечению патологии, ассоциированной с возрастом, в том числе нейродегенеративных заболеваний. При старении в крови и тканях уменьшается концентрация фермента никотинамидфосфорибозилтрансферазы (nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT) – лимитирующего звена энергетического обмена клеток. В связи с этим в клетках при старении снижается синтез никотинамидадениндинуклеотида (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), необходимого для обеспечения энергообмена и метаболизма. Уменьшение концентрации NAMPT и NAD при старении организма выявлено в печени, почках, скелетных мышцах, жировой ткани, сердце и в центральной нервной системе [22, 50, 59]. Обнаружено снижение экспрессии NAMPT и NAD при нейродегенеративных заболеваниях (болезни Альцгеймера, Паркинсона, деменции различного генеза). Повышение экспрессии NAMPT не только восстанавливает содержание NAD, но и способствует замедлению старения организма. Предшественник NAD, никотинамид рибозид (NR), является природным соединением, с помощью которого можно повысить синтез NAD в клетках. NR, являясь веществом с высокой пероральной биодоступностью, может оказывать положительное влияние на восстановление когнитивных функций при нейродегенеративных заболеваниях, ассоциированных с возрастом.

**Ключевые слова:** NAMPT, NAD, старение, когнитивные функции, нейродегенеративные заболевания

**DOI:** 10.31857/S0301179821020053

В настоящее время в мире наблюдается увеличение продолжительности жизни, благодаря чему доля пожилых людей в общей численности населения возрастает. В связи с этим повышается

количество заболеваний, ассоциированных с возрастом. Поэтому актуальной задачей молекулярной медицины и биологии является поиск новых средств для профилактики развития воз-

**Сокращения:** АДФ – аденозиндифосфат, БА – болезнь Альцгеймера, БП – болезнь Паркинсона, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, ПОЛ – перекисное окисление липидов, СК – стволовые клетки, ЦНС – центральная нервная система, Cask – кальций/кальмодулин-зависимая-серин-протеинкиназа, CD – кластер дифференцировки, FGF – фактор роста фибробластов, GSH – глутатион, IL – интерлейкин, MAFK – мезэнцефальный астроцитоподобный нейротрофический фактор, NAD – никотинамидадениндинуклеотид, NAM – никотинамид, NGF – фактор роста нервов, NA – никотиновая кислота, NAMPT – никотинамидфосфорибозилтрансфераза, NMN – никотинамид мононуклеотид, OGD – ишемия-подобная кислородно-глюкозная депривация, TNF – фактор некроза опухоли, TIMP – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ, SCN – супрахиазматическое ядро, SIRT – сиртуин.

растной патологии. Актуальным направлением молекулярной геронтологии служит поиск белков, обладающих геропротекторными свойствами [2]. К ним относятся дифференцировочный фактор роста I1 [1, 3, 4, 23], регулятор длины теломера, гормон ирисин [3, 4], регулятор функций клеток поджелудочной железы – бетатрофин [9], тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2), мезэнцефальный астроцитоподобный нейротрофический фактор (mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF), фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF), факторы роста фибробластов-19, 21, 23 (fibroblast growth factors, FGF19, FGF21, FGF23) [5–8, 10]. Все “белки молодости” способствуют продлению и улучшению качества жизни. Эти белки способствуют репарации ДНК, обладают противовоспалительным, антиапоптотическим, антиоксидантным и антиклеротическим действием, стимулируют когнитивные функции, препятствуют развитию дегенеративных и травматических поражений центральной нервной системы (ЦНС), в том числе при болезнях Альцгеймера (БА) и Паркинсона (БП).

“Белки молодости” нормализуют состояние клеточного и гуморального иммунитета, липидного спектра, процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), системы гемостаза, синтез половых гормонов и кардиогемодинамические функции. Концентрация этих белков в крови уменьшается при старении организма.

В настоящее время появились данные о том, что в крови у животных и человека при старении наблюдается снижение концентрации внеклеточной формы фермента никотинамидфосфорилтрансферазы (nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT), лимитирующего звена энергетического обмена клеток. В результате при старении клетки менее эффективно синтезируют никотинамидадениндинуклеотид (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD), необходимый для обеспечения энергетических процессов. Поэтому, наряду с “белками молодости”, NAMPT и NAD могут рассматриваться в качестве протеинов, препятствующих и замедляющих процессы старения организма.

## NAMPT И NAD: МЕТАБОЛИЗМ И ФУНКЦИИ

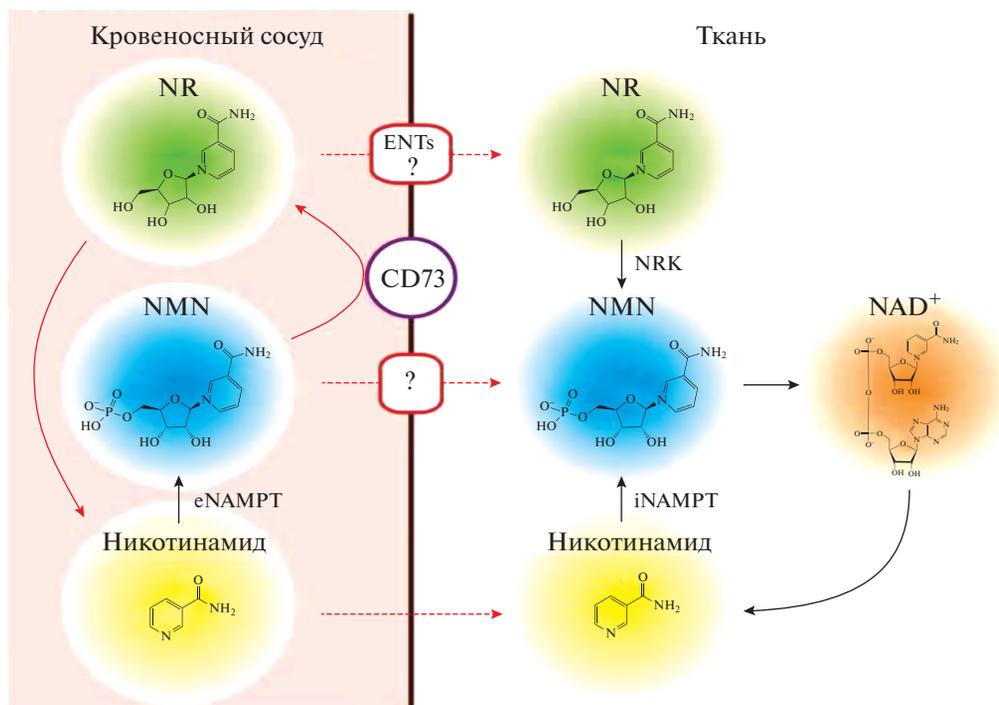
NAD был открыт как кофермент, участвующий в дрожжевом брожении, и считался классическим метаболитом. В настоящее время показано, что NAD является кофактором, который служит для реализации различных биологических процессов, включая метаболизм, репарацию ДНК и экспрессию генов.

NAD играет центральную роль в регуляции путей энергетического метаболизма, включая гликолиз, окисление жирных кислот ( $\beta$ -окисление), цикл трикарбоновых кислот и окислительное фосфорилирование [20]. Взаимодействие между окисленными (NAD) и восстановленными (NADH) формами кофермента реализует различные сигнальные каскады клетки [12]. NAD контролирует дыхание митохондрий посредством ферментов цикла трикарбоновых кислот,  $\beta$ -окисления и окислительного фосфорилирования, а также служит субстратом для посттрансляционных модификаций белка, таких как деацетилирование и АДФ-рибозилирование сиртуинами [35]. Белки CD38 и CD157 превращают NAD в АДП-рибозу (ADPR) или циклический-ADPR [53]. Биосинтез NAD, опосредованный NAMPT, необходим для регуляции адаптивного термогенеза, липолиза и энергетического метаболизма животных и человека [80].

У млекопитающих NAD синтезируется из триптофана *de novo*, из никотиновой кислоты (NA) и из никотинамида (NAM). Никотинамидрибозид (NR) также используется для генерирования NAD (рис. 1). Установлено, что предшественник NAD – никотинамид мононуклеотид (NMN) после внутрибрюшинной инъекции мышам появляется в плазме, печени, белой жировой ткани и поджелудочной железе и используется для биосинтеза NAD, что приводит к увеличению его концентрации в 2–3 раза в печени в течение 60 мин [85]. Перорально вводимый NMN абсорбируется и превращается в NAD в печени и скелетных мышцах [15, 16, 48].

Химическое или генетическое ингибирование 5'-нуклеотидазы или Nr1/2 отменяет использование NMN в культивируемых клетках [56, 63]. Внеклеточный NMN может транспортироваться в клетки и из него синтезируется NAD [27]. Дефицит NAD при старении является следствием активации АДФ-рибозы, полимеразы-1 (PARP-1), снижения активности NAMPT и повышения функциональности CD38, катализирующего деградацию NAD [90].

Установлены внеклеточное превращение и деградация NMN и NR и их возможные механизмы поглощения [85, 86]. NAMPT, являющаяся ферментом, ответственным за продукцию NMN, имеет две изоформы – внутриклеточную (iNAMPT) и внеклеточную (eNAMPT). eNAMPT верифицирован в системе кровообращения, ликворе и семенной жидкости у мышей и человека [31, 36, 57, 83]. eNAMPT продуцируют адипоциты [83], гепатоциты [62], лейкоциты [31], кардиомиоциты [52], глиальные и эпителиальные клетки, моноциты [81]. iNAMPT является ацетилированным, а его сиртуин-зависимое деацетилирование в лизине



**Рис. 1.** Схема метаболизма NAMPT в крови и тканях (адаптировано из [85]). Обозначения на рисунке: NAD – никотинамидадениндинуклеотид, NAM – никотинамид, NA – никотиновая кислота, NAMPT – никотинамидфосфорилтрансфераза, NMN – никотинамид мононуклеотид.

по 53 аминокислотному остатку повышает ферментативную активность адипоцитов [83].

При нарушениях обмена веществ и старении уровень NAMPT и NAD в крови снижается [32]. Благодаря NAD-биосинтетической активности, NAMPT влияет на активность NAD-зависимых ферментов, регулируя клеточный метаболизм. eNAMPT обладает свойствами цитокинов. NAMPT способен модулировать процессы, участвующие в патогенезе ожирения и связанных с ним расстройств, таких как неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2 типа. NAMPT регулирует процессы окислительного стресса, апоптоза, метаболизма липидов и глюкозы, воспаление и резистентность к инсулину [67]. NAMPT принадлежит основная роль в метаболизме раковых клеток. Часто NAMPT сверхэкспрессируется в опухолевых тканях и является экспериментальной мишенью для противоопухолевой терапии.

### NAMPT, NAD И СТАРЕНИЕ

Уровень NAD снижается с возрастом во многих тканях и органах, включая печень, почки, скелетные мышцы, жировую ткань, сердце, мозг [20]. Предполагается, что концентрация NAD в различных органах и тканях определяются балансом между его синтезом и деградацией, и что старение влияет на оба этих пути [79].

Содержание NAD и NAMPT в крови подвержено циркадным колебаниям, которые могут усиливаться через регуляторную петлю NAMPT–NAD–SIRT1. Нарушение циркадного ритма при старении может снизить содержание NAMPT и NAD в различных органах. Так, у старых мышей концентрации NAMPT и SIRT1 были снижены в супрахиазматическом ядре (SCN) и области гипоталамуса, контролирующей циркадные ритмы. Амплитуда циркадных колебаний в SCN с возрастом уменьшается и тогда блокада NAMPT–NAD–SIRT1 может привести к дальнейшему снижению экспрессии NAMPT [13].

Другой возможной причиной снижения уровня NAMPT в крови и тканях при старении является хроническое воспаление (inflamm-aging). Стрессорный ответ усиливается при старении и способствуют хроническому воспалению во всех типах тканей. Хроническое воспаление вызывает выделение провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) и способствует повреждению клеток [28]. Эти цитокины снижают экспрессию гена, кодирующего NAMPT [85]. TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  ингибируют CLOCK и BMAL1-опосредованную экспрессию генов циркадных ритмов [51].

Гиперэкспрессия NAMPT восстанавливает репликацию в клетках гладких мышц человека. В присутствии никотинамида NAMPT может замедлять дегенерацию аксонов *in vitro*. Снижение

NAMPT в стареющем мозге может снизить уровень NADH, что способно вызвать окислительный стресс и способствовать нейродегенерации.

Экспрессия *Nmnat3* у мышей способствовала увеличению содержания NAD в различных тканях и предотвращала связанное со старением снижение концентрации NAD. Мыши со сверхэкспрессией *Nmnat3* были защищены от резистентности к инсулину, индуцированной диетой и связанной со старением. В скелетных мышцах мышей линии *Nmnat3 Tg* активность цикла трикарбоновых кислот была выше, а источник энергии для окислительного фосфорилирования смещался в сторону усиленного окисления жирных кислот. Продукция активных форм кислорода (АФК) у старых мышей линии *Nmnat3 Tg* была снижена. В то же время концентрация NAD-аналога никотинамид-гуанин-динуклеотида у мышей линии *Nmnat3 Tg* резко возрастала. Представленные данные позволили высказать предположение о том, что гиперэкспрессия *Nmnat3* улучшает метаболизм и ген *Nmnat3* является возможной терапевтической мишенью при лечении метаболических нарушений, вызванных старением.

Инъекция NAMPT-нейтрализующих антител снижает уровень NAD в гипоталамусе, тогда как очищенный eNAMPT в ткани гипоталамуса может усиливать синтез NAD, активность SIRT1 и повышать нейропластичность. Таким образом eNAMPT играет решающую роль в регуляции биосинтеза и функции NAD в гипоталамусе [83].

При старении в скелетных мышцах концентрация NAD снижается [29, 30, 79]. У мышей, нокаутированных по NAMPT, на фоне прогрессирующего снижения уровня NAD происходит дегенерация скелетных мышц. Применение NR восстанавливает содержание NAMPT в мышечной ткани у нокаутных по этому гену мышей [29, 30]. Нейрональный NAMPT необходим для реализации пре- и постсинаптической функции нервно-мышечного синапса, а также для поддержания структуры и функции скелетных мышц [45].

Установлено, что NAD играет критическую роль в старении стволовых клеток (СК). При старении в СК развивается митохондриальная дисфункция, включающая снижение окислительного фосфорилирования и концентрации NAD. Применение NR предотвращает клеточное старение [88, 89].

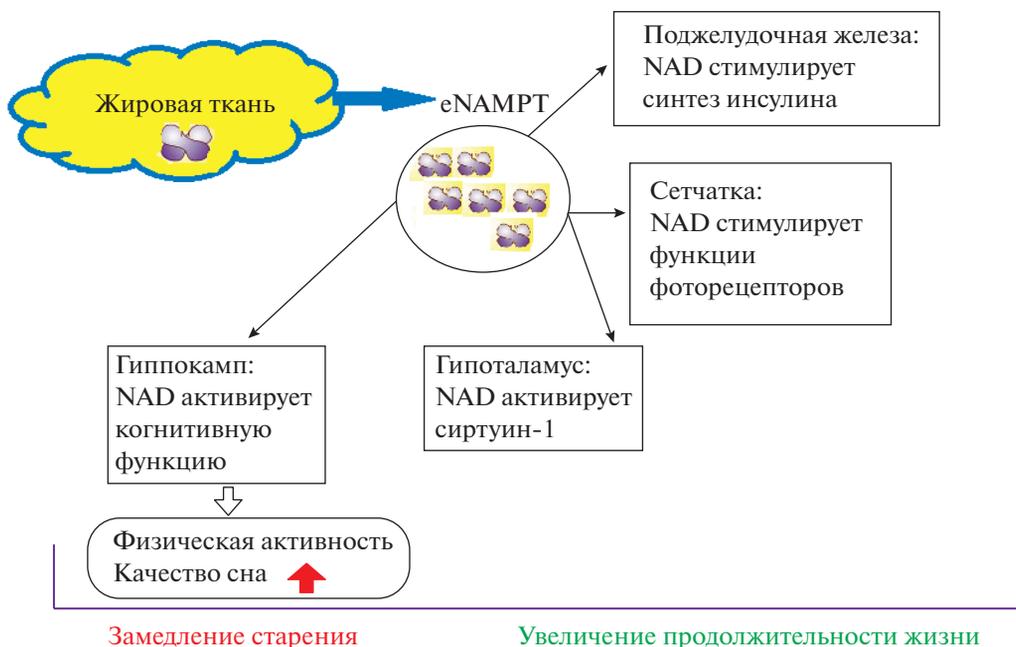
Учитывая патофизиологическое значение eNAMPT и фармакокинетические особенности NMN для системного механизма регуляции старения была предложена концепция “NAD World”. Первоначально концепция “NAD World” рассматривалась как системная регуляторная сеть, связывающая метаболизм NAD, биологический ритм и контроль старения и долголетия у млеко-

питающих [39–41]. Согласно этой концепции, SIRT1 и NAMPT являются двумя ключевыми компонентами, которые регулируют синтез NAD. SIRT1 функционирует в качестве критического метаболического регулятора в различных органах и тканях в ответ на изменения доступности NAD, а NAMPT обеспечивает циркадный ритм продукции NAD [55]. В этой концепции eNAMPT и NMN играют ключевую роль в системном регулировании синтеза NAD. Доступность NMN особенно важна для тканей и органов, которые обладают очень низким уровнем iNAMPT, таких как  $\beta$ -клетки поджелудочной железы и нейроны ЦНС. Недавно эта концепция была пересмотрена и названа “NAD World 2.0” [40]. Новая концепция для контроля старения и долголетия млекопитающих учитывает важность взаимосвязи между тремя ключевыми органами и тканями: гипоталамусом, жировой тканью и скелетными мышцами. Предполагается, что NMN функционирует как системная сигнальная молекула, которая поддерживает биологическую устойчивость NAD. Известно, что концентрация NAD в различных органах и тканях снижается с возрастом [17, 18, 29, 30, 39, 41]. Применение NMN или NR для усиления системного биосинтеза NAD может быть эффективным средством для поддержания физиологических функций и замедления процесса старения у млекопитающих.

У старых мышей линии *Nampt knockin (ANKI)* с гиперэкспрессией eNAMPT в жировой ткани содержание eNAMPT в крови и концентрация NAD в тканях (гипоталамус, гиппокамп, поджелудочная железа, сетчатка) сохранялись на уровне молодых животных дикого типа. У старых мышей линии *Nampt knockin* отмечено повышение физической активности, улучшение качества сна, когнитивных функций, метаболизма глюкозы и функции фоторецепторов [83].

Предшественники NAD, NR и NMN, являются соединениями, с помощью которых можно повысить уровень NAD в клетках различных органов и тканей [69]. Так как NR и NMN могут устранять нарушения метаболизма глюкозы, сердечно-сосудистых и нервных функций и поддерживать развитие СК, то, возможно, таким способом можно способствовать увеличению продолжительности жизни.

У мышей и человека с возрастом концентрация NAMPT в крови снижается [84]. Введение микровезикул, содержащих NAMPT, старым животным вызывает стимуляцию синтеза NAD и предотвращает старение организма. При этом отмечается усиление синтеза инсулина, увеличение активности фоторецепторов сетчатки глаза, значительное улучшение качества сна и когнитивных функций, увеличение подвижности и беговой активности. К такому же эффекту приводило



**Рис. 2.** Влияние NAMPT на продолжительность жизни (адаптировано из [84]). Обозначения на рисунке: NAD – никотинамидадениндинуклеотид, NAMPT – никотинамидфосфорибозилтрансфераза.

пероральное применение NAMPT у мышей. Авторы считают, что ведущая роль в регуляции процесса старения принадлежит гипоталамусу, деятельность которого во многом зависит от синтеза NAD. В гипоталамусе под воздействием NAMPT, синтезируемой в жировой ткани и переносимой в головной мозг кровью, усиливается синтез NAD. Поэтому применение NAMPT-содержащих микровезикул увеличивает продолжительность жизни у старых животных (рис. 2).

В другой работе изучали влияние физических нагрузок на содержание NAMPT и NAD в крови. Аэробная тренировка у молодых и пожилых людей увеличила содержание NAMPT в крови на 12 и 28% соответственно, тогда как тренировка с отягощениями у тех же испытуемых повышала концентрацию NAMPT на 25 и 30% [24, 25].

### NAMPT, NAD И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

С возрастом число полипотентных клеток головного мозга снижается [14]. Делеция в гене, кодирующем белок NAMPT в этих клетках нарушает их пролиферацию и дифференцировку [65, 66]. У мышей с отсутствием экспрессии NAMPT в нейронах переднего отдела мозга (СаМКIIα Nampt (-/-)) к 2–3 месячному возрасту развивается астроглиоз, микроглиоз, атрофия гиппокампа и коры, а также аномалия структуры СА1-дендрита [65, 66]. Указанные гистологические изменения сопровождаются нарушением внутри гип-

покампальных связей между нейронами и нарушениями в поведении: гиперактивностью, дефектами двигательных навыков, ухудшением памяти и снижением чувства тревоги, тогда как сенсорные функции остаются неизменными. Эти результаты свидетельствуют о том, что нейроны переднего мозга в основном используют внутриклеточный NAMPT-опосредованный биосинтез NAD.

Концентрация NAMPT в SCN при старении снижается. В гипоталамусе уровень NAD является критическим регулятором активности SIRT1 и оказывает влияние на различные связанные со старением функции как локально, так и системно. У мышей, нокаутированных по гену SIRT1, обнаруживается циркадный спад, напоминающий старение, в то время как гиперэкспрессия SIRT1 в мозге защищает таких животных от проявлений ускоренного старения [21].

Установлено, что нейронам в дугообразном ядре гипоталамуса принадлежит основная роль в регуляции энергетического баланса. С возрастом уровень белка SIRT1 в нейронах уменьшается. В то же время сверхэкспрессия SIRT1 в этих нейронах предотвращает возрастное увеличение веса. SIRT1 *in vitro* и *in vivo* повышал в нейронах гипоталамуса чувствительность к лептину, подавляя синтез протеин-тирозин-фосфатазы 1B и T-клеточной протеин-тирозин-фосфатазы. Следовательно, SIRT1 в нейронах дугообразного ядра является негативным регулятором энергетического баланса. Угнетение его функции приводит при старении к нарушению энергетического

гомеостаза [60]. Следует отметить, что специфическая для адипоцитов делеция NAMPT оказывает влияние на уровень NAD не только в жировой ткани, но и в гипоталамусе. Это действие скорее всего осуществляется за счет влияния eNAMPT [83].

Установлено, что концентрация NAD в гиппокампе у старых мышей снижается, хотя при этом отмечается незначительное снижение способности к пространственному обучению у животных [44]. У старых мышей в ответ на проведение контекстуальных тестов, вызывающих чувство страха, развивается когнитивная гиперчувствительность. Применение NMN у таких животных улучшило сенсорный процессинг гиперчувствительности. Потенциальным эффектором, приводящим к снижению концентрации NAD в гиппокампе у старых мышей, является кальций/кальмодулин-зависимая-серин-протеинкиназа (Cask). Кратковременное добавление NMN может усиливать экспрессию Cask в гиппокампе старых животных.

Установлено, что гиперэкспрессия NAMPT через 2 ч после искусственно вызванной церебральной ишемии (перевязка средней мозговой артерии) усиливала аутофагию. На ранней стадии церебральной ишемии индуктор аутофагии рапамицин защищал нейроны от повреждения, вызванного нокдауном NAMPT, в то время как ингибитор аутофагии 3-метиладенин частично устранял описанный нейропротекторный эффект. NAMPT во время церебральной ишемии способствует выживанию нейронов посредством индукции аутофагии с помощью регуляции сигнального пути TSC2–mTOR–S6K1 SIRT1-зависимым образом [70].

Установлено, что нейрон-специфическая сверхэкспрессия NAMPT уменьшает область инсульта при моделировании ишемии головного мозга у мышей [71]. Сверхэкспрессия NAMPT увеличивает площадь миелиновых волокон нейронов в полосатом и мозолистом теле. Эти данные свидетельствуют о том, что NAMPT защищает от повреждения белое вещество головного мозга. Обнаруженный механизм защиты, видимо, обусловлен внеклеточным высвобождением NAMPT. Об этом свидетельствуют следующие факты. NAMPT секретировался во внеклеточную среду первичными корковыми нейронами, подвергавшимися ишемии-подобной кислородно-глюкозной депривации (oxygen-glucose deprivation, OGD). Кондиционированная среда из NAMPT-сверхэкспрессирующих нейронов, подвергшихся воздействию OGD, защищала культивируемые олигодендроциты от OGD. Приведенные данные свидетельствуют о наличии новой нейропротекторной роли секретуемого NAMPT в защите белого вещества после ишемического повреждения [43].

Сверхэкспрессия NAMPT в нейронах может способствовать их выживанию, уменьшать транс-

локацию из митохондрий фактора AIF, индуцирующего апоптоз, ингибировать активацию каспазы-3 в модели болезни Альцгеймера у животных с применением глутамат-эксцитотоксичности. Кроме того, NAMPT способен подавлять индуцированную глутаматом фрагментацию митохондрий, снижать экспрессию PGC-1 и NRF-1. Перечисленные эффекты NAMPT зависят от его ферментативной активности, связанной с синтезом NAD [73, 76]. При исследовании первичных корковых нейронов и препаратов коры головного мозга мыши, показано, что что NAMPT и никотинамидно-нуклеотид аденилаттрансфераза 3 (NMNAT3) локализованы в митохондриальном матриксе [72, 75].

Известно, что дисфункция NAMPT вызывает митохондриальную дисфункцию, сопровождаемую нарушением синаптической функции в нервно-мышечных синапсах. У мышей линии NamptсKO введение NMN сопровождалось снижением двигательной функции и увеличением продолжительности жизни [74]. Оказалось, что уровень белка iNAMPT снижается в спинном мозге пациентов с амиотрофическим латеральным склерозом, что указывает на участие NAMPT в патогенезе этого заболевания. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейрональный NAMPT играет существенную роль в митохондриальной биоэнергетике и моторной функции. Предполагается что NAMPT-опосредованный путь биосинтеза NAD является потенциальной терапевтической мишенью при лечении дегенеративных нейромышечных заболеваний.

Высказано предположение, что NAMPT является терапевтической мишенью при ишемическом инсульте. Использование NAMPT при этой патологии может обеспечить нейропротекцию посредством регуляции митохондриального биогенеза, активации SIRT1, ингибирования активности PARP1. Кроме того, лечение с применением NAMPT может стимулировать неоваскуляризацию и нейрогенез после возникновения ишемического инсульта [72, 75].

NAMPT способствует выживанию клеток млекопитающих при окислительном стрессе посредством SIRT1-зависимого, p53-CD38 и SIRT1-независимого пути NRF2-PPAR $\alpha$ /AMPK $\alpha$  [87]. При обработке клеток перекисью водорода их мембранный потенциал и количество митохондрий в них были снижены. Активация пути NRF2-PPAR $\alpha$ /AMPK $\alpha$  посредством избыточной экспрессии NAMPT восстанавливала мембранный потенциал митохондрий.

Старение является основным фактором риска развития БА и во многом связано со снижением защиты от окислительно-восстановительного стресса и увеличения образования свободных радикалов, связанных с дисфункцией митохон-

дрий. Если NADH является основным донором электронов для многих окислительно-восстановительных реакций, включая окислительное фосфорилирование, то глутатион (GSH) служит основным буфером окислительно-восстановительного потенциала в клетке. При ингибировании синтеза NADH и GSH выяснялось, какую роль играют указанные ферменты при старении в норме и при моделировании БА у мышей [33]. В нейронах, полученных от старых животных, способность к регенерации NADH и уровень GSH снижались, а содержание свободных радикалов увеличивалось. В нейронах трансгенных мышей с БА способность к регенерации NADH, уровень GSH были ниже, чем в нейронах мышей дикого типа. Отмечено также возрастное снижение экспрессии генов ключевых редокс-зависимых биосинтетических ферментов нейронов, NAMPT, NADPH и NNT. В модели ранней формы БА (трансгенные мыши линии APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>ΔE9</sup>) применение NAD привело к ускорению пространственного обучения и улучшению памяти и уменьшало наличие склеротических бляшек в сосудах. Введение NAD животным с БА сопровождалось усилением экспрессии NAMPT и SIRT1 [78].

Применение NR у мышей с БА ослабляет когнитивные нарушения, что совпадает с увеличением уровня NAD в коре головного мозга. Нанесение NR на срезы гиппокампа устраняет дефицит долговременного потенцирования, зарегистрированного в области CA1 головного мозга мышей с БА. Обработка NR способствует экспрессии в мозге PGC-1 $\alpha$ , что совпадает с усилением деградации  $\beta$ -секретазы (BACE1) и снижением продукции амилоидного пептида. Экспрессия белка BACE1 в первичной культуре нейронов, полученных от мышей с БА, снижается под действием NR [34]. Применение NR уменьшает агрегацию амилоида и количество амилоидных бляшек в нейронах мышей с БА (линия APP<sup>swe</sup>/PSEN1<sup>ΔE9</sup>). Полученные данные подтвердили важность усиления митохондриального протеостаза для снижения амилоидной синаптотоксичности при БА [64].

Применение NAD для восстановления поврежденных митохондрий является многообещающей стратегией лечения БА и других нейродегенеративных заболеваний, в том числе деменции. Применение NR у трансгенных мышей линии APP/PS1 (модель БА) и старых мышей улучшало кратковременную пространственную память и контекстную память о страхе, ингибировало активацию астроцитов и повышение NAMPT в крови, препятствовало увеличению массы тела животных. У мышей с БА применение NR ингибировало накопление амилоидного пептида. На основании полученных данных исследователи приходят к выводу, что NR является перспективным веществом для терапии БА и прогрессирования деменции [77].

Введение NR улучшало когнитивную функцию и синаптическую пластичность гиппокампа у мышей с БА, уменьшало повреждения ДНК, активность воспалительного процесса и апоптоза в нейронах гиппокампа [38]. Применение NMN при БА у животных замедляло гибель нейронов, улучшало когнитивные и поведенческие показатели, снижало продукцию  $\beta$ -амилоида, потерю синапсов и интенсивность воспалительной реакции [73, 76, 82]. NMN ингибировал активацию JNK (jun N terminal kinase). Установлено, что NMNAT1 и NMNAT2 играют нейропротекторную роль и восстанавливают поведенческие нарушения в моделях у мышей с таупатией [49, 58].

Показано, что FGF21 в культуре дофаминергических клеток человека увеличивает содержание PGC-1 $\alpha$  и митохондриальных антиоксидантов. Активация PGC-1 $\alpha$  под влиянием FGF21 происходила с участием NAD-зависимой деацетилазы SIRT1 и проявлялась после повышения активности NAMPT. FGF21 также усиливает дыхательную способность митохондрий в дофаминергических нейронах человека. Следовательно, FGF21, активируя PGC-1 $\alpha$  и повышая эффективность митохондрий в дофаминергических нейронах человека, может играть положительную роль в жизнеспособности дофаминергических нейронов, в частности при БП [46].

Для создания модели БП *in vitro* клетки PC12 обрабатывали нейротоксином 6-гидроксидопамином (6-OHDA). При этом наблюдалось значительное снижение уровня NAMPT и NAD, а также изменение соотношения NAD/NADH. Предварительная инкубация PC12 с высокоспецифичным ингибитором NAMPT FK866 усилила ингибирующее действие 6-OHDA на жизнеспособность этих клеток, в то время как предварительная инкубация с NMN вызывала противоположный эффект. NMN в клетках PC12 ослаблял вызванное 6-OHDA снижение активности супероксиддисмутазы, уровня глутатиона, малонового диальдегида и лактатдегидрогеназы. На основании полученных данных авторы приходят к выводу, что применение NMN для активации SIRT1 может представлять новую стратегию при лечении БП.

Высказывается предположение, что митохондриальная дисфункция является ключевым патогенетическим фактором БП [42]. Имеются данные о том, что нейроны пациентов с БП проявляют стрессовые реакции, приводящие к гибели митохондрий и изменения метаболизма NAD [61]. Применение NR приводило к повышению NAD, значительно улучшало функцию митохондрий в нейронах пациентов с БП. Таким образом, для поддержания концентрации NAD в нейронах требуется NAMPT, а также NRK1 – для синтеза NAD из его предшественников. NR предотвраща-

ет связанную с возрастом дофаминергическую потерю нейронов и снижение моторных функций.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВЕЩЕСТВ, СТИМУЛИРУЮЩИХ СИНТЕЗ NAMPT И NAD, В ГЕРОПРОТЕКЦИИ

Установлено, что применение NR в рамках I фазы клинических испытаний увеличивает содержание NAD в мононуклеарах периферической крови [11, 69]. На основании полученных данных авторы приходят к выводу, что NR увеличивает у людей концентрацию NAD в крови, он может применяться в качестве терапевтического средства у пациентов с митохондриальной дисфункцией, обусловленной генетическими и/или приобретенными заболеваниями. В другом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании сообщалось, что применение NR повышает уровень NAD в крови лиц пожилого возраста на 40–90%. Применение NR у людей с повышенным артериальным давлением приводило к его снижению. Кроме того, использование NR сопровождалось улучшением работоспособности пациентов [47]. В 2016 г. было успешно завершено двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по оценке безопасности применения препарата NAD в течение 6 недель у здоровых пожилых людей [37].

Некоторые исследования противоречат приведенным выше данным. В рандомизированном плацебо-контролируемом клиническом исследовании у мужчин среднего возраста применение NR привело к снижению содержания NAMPT в скелетных мышцах на 14%. В этом исследовании NR не влиял ни на дыхательную способность митохондрий скелетных мышц, ни на количество митохондриальных белков [26]. Для окончательного решения вопроса о влиянии перорального приема NR и NAD на течение физиологических функций здоровых и больных людей требуется проведение дополнительных исследований [54, 69].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

NAMPT и NAD являются ключевыми звеньями энергетического обмена клеток и белками, замедляющим старение и развитие возраст-ассоциированных заболеваний. При старении происходит снижение концентрации NAMPT и NAD в различных органах: печени, почках, скелетных мышцах, жировой ткани, сердце и различных структурах ЦНС. Одной из важнейших причин нарушения синтеза NAMPT и NAD в стареющем организме является изменение циркадного ритма, особенно сильно выраженного в различных отделах ЦНС, включая гиппокамп и другие структуры, связанные с когнитивной деятельностью. Кроме того, причинами снижения уровня

NAMPT и NAD при старении организма является хроническое воспаление, вызванное различными стрессорными факторами и заболеваниями, ассоциированными с возрастом. В то же время было показано, что гиперэкспрессия NAMPT не только восстанавливает содержание NAD, но и способствует замедлению старения организма животных.

У человека и животных с увеличением возраста снижается концентрация NAMPT в крови. Применение NAMPT стимулирует синтез NAD и предотвращает ускоренное старение у животных. Имеются сведения о том, что ведущая роль в регуляции старения принадлежит гипоталамусу, деятельность которого во многом зависит от синтеза NAD. В гипоталамусе под воздействием NAMPT, переносимого в ЦНС микровезикулами, усиливается синтез NAD. По мере снижения уровня NAMPT в крови гипоталамус теряет способность нормально функционировать, что сокращает продолжительность жизни. Повышение уровня NAMPT и NAD в крови сопровождается усилением когнитивных функций у старых мышей. Введение мышам NAD, ведущее к его гиперэкспрессии, в значительной степени ликвидирует те нарушения, которые возникают при моделировании ишемии головного мозга у животных. Показано, что после глутамат-эксцитотоксичности сверхэкспрессия NAMPT в нейронах может способствовать их выживанию, ингибируя активацию капазы-3.

Снижение синтеза NAMPT и NAD выявлено при нейродегенеративных заболеваниях, таких как БА и БП. Применение NR, активирующего синтез NAMPT и NAD в нейронах головного мозга, способствовало снижению выраженности проявлений БА в моделях на животных. Установлено, что NR является безопасным предшественником NAD с высокой пероральной биодоступностью и оказывает положительное влияние на восстановление когнитивных функций при нейропатологии. Таким образом, белки NAMPT и NAD могут являться потенциальными мишенями действия или биологически активными молекулами, эффективными при лечении нейродегенеративных заболеваний и другой, ассоциированной с возрастом, патологии.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гусева Е.С., Давыдов С.О., Кузник Б.И. и др. Роль дифференцировочного фактора роста 11 (GDF11) в регуляции липидного обмена и кардиогемодинамических функций у больных гипертонической болезнью при умеренной физической нагрузке // Российский кардиологический журнал. 2018. № 4. С. 93–98.
2. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов А.В. и др. Белки “молодости” и “старости” и система гемостаза. //

- Тромбоз, гемостаз и реология. 2016. № 3. С. 234–235.
3. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов А.В. Роль мышечного гормона ирисина в регуляции физиологических функций в условиях нормы и патологии // Успехи физиологических наук. 2018. Т. 49. № 4. С. 1–22.
  4. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов О.В. и др. “Белок молодости” GDF11, состояние системы гемостаза и особенности кровотока у женщины, страдающих гипертонической болезнью // Тромбоз, гемостаз и реология. 2018. № 1. С. 39–45.
  5. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Ланда И.В. Фактор роста нервов (NGF) и его роль в условиях нормы и патологии // Успехи физиологических наук. 2019. Т. 50. № 4. С. 64–80.
  6. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Чалисова Н.И. Роль белков MANF, TIMP-2 и ирисина в старении организма // Успехи современной биологии. 2019. Т. 139. № 6. С. 540–52.
  7. Кузник Б.И., Давыдов С.О., Чалисова Н.И. “Омолаживающий” белок MANF и его функции в норме и при патологии // Молекулярная медицина. 2019. Т. 17. № 5. С. 3–12.
  8. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. и др. Факторы роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23 как эндокринные регуляторы физиологических функций и геропротекторы. Эпигенетические механизмы регуляции // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137. № 1. С. 84–99.
  9. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Линькова Н.С. и др. Подсемейство факторов роста фибробластов FGF19, FGF 21, FGF 23 как факторы “молодости”. Эпигенетические механизмы регуляции // Геронтология. 2017. № 1. С. 3–9.
  10. Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. и др. Ирисин, бетатрофин, сахарный диабет, ожирение и метаболический синдром. Эпигенетические механизмы регуляции // Успехи физиологических наук. 2018. Т. 49. № 1. С. 72–86.
  11. Airhart S.E., Shireman L.M., Risler L.J. et al. An open-label, non-randomized study of the pharmacokinetics of the nutritional supplement nicotinamide riboside (NR) and its effects on blood NAD<sup>+</sup> levels in healthy volunteers // PLoS One. 2017. № 12. e0186459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186459>
  12. Anderson K.A., Madsen A.S., Olsen C.A. et al. M.D. Metabolic control by sirtuins and other enzymes that sense NAD(+), NADH, or their ratio // Biochim. Biophys. Acta. 2017. V. 18. № 58. P. 991–998.
  13. Baburski A.Z., Sokanovic S.J., Bjelic M.M. et al. Circadian rhythm of the Leydig cells endocrine function is attenuated during aging // Exp. Gerontol. 2016. № 73. P. 5–13.
  14. Ben Abdallah N.M., Slomianka L., Vyssotski A.L. et al. Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice // Neurobiol. Aging. 2010. № 31. P. 151–161.
  15. Bieganowski P., Brenner C. Discoveries of nicotinamide riboside as a nutrient and conserved NRK genes establish a Preiss-Handler independent route to NAD<sup>+</sup> in fungi and humans // Cell. 2004. № 117. P. 495–502.
  16. Bockwoldt M., Houry D., Niere M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2019. V. 116. № 32. P. 15957–15966. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902346116>
  17. Braidy N., Guillemin G.J., Mansour H. et al. Age related changes in NAD<sup>+</sup> metabolism oxidative stress and Sirt1 activity in Wistar rats // PLoS One. 2011. V. 6. № 4. e19194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019194>
  18. Camacho-Pereira J., Tarrago M.G., Chin C.C.S. et al. CD38 dictates age-related NAD decline and mitochondrial dysfunction through an SIRT3-dependent mechanism // Cell Metab. 2016. № 23. P. 1127–1139.
  19. Canto C., Menzies K.J., Auwerx J. et al. NAD(+) metabolism and the control of energy homeostasis: a balancing act between mitochondria and the nucleus // Cell Metab. 2015. № 22. P. 31–53.
  20. Chaleckis R., Murakami I., Takada J. et al. Individual variability in human blood metabolites identifies age-related differences // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2016. № 113. P. 4252–4259.
  21. Chang H.C., Guarente L. SIRT1 mediates central circadian control in the CNS by a mechanism that decays with aging // Cell. 2013. № 153. P. 1448–1460.
  22. Dall M., Trammell S.A.J., Asping M. et al. Mitochondrial function in liver cells is resistant to perturbations in NAD<sup>+</sup> salvage capacity // J. Biol. Chem. 2019. V. 294. № 36. P. 13304–13326. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006756>
  23. De Domenico E., D’Arcangelo G., Faraoni I. et al. Modulation of GDF11 expression and synaptic plasticity by age and training. // Oncotarget. 2017. V. 8. № 35. P. 57991–8002. doi: 10.18632.
  24. de Guia R.M., Agerholm M., Nielsen T.S. et al. Aerobic and resistance exercise training reverses age-dependent decline in NAD<sup>+</sup> salvage capacity in human skeletal muscle // Physiol. Rep. 2019. V. 7. № 12. P. 93–97. <https://doi.org/10.14814/phy2.14139>
  25. de Guia R.M., Agerholm M., Nielsen T.S. et al. Aerobic and resistance exercise training reverses age-dependent decline in NAD<sup>+</sup> salvage capacity in human skeletal muscle // Physiol. Rep. 2019. V. 7. № 12. e14139. <https://doi.org/10.14814/phy2.14139>
  26. Dollerup O.L., Chubanava S., Agerholm M. et al. Nicotinamide riboside does not alter mitochondrial respiration, content or morphology in skeletal muscle from obese and insulin resistant men // J. Physiol. 2019. Nov 11. <https://doi.org/10.1113/JP278752>
  27. Fletcher R.S., Ratajczak J., Doig C.L. et al. Nicotinamide riboside kinases display redundancy in mediating nicotinamide mononucleotide and nicotinamide riboside metabolism in skeletal muscle cells // Mol. Metab. 2017. № 6. P. 819–832.
  28. Franceschi C., Campisi J. Chronic inflammation (inflamm-aging) and its potential contribution to age-associated diseases // J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2014. V. 69. Suppl. 1. P. 4–9.
  29. Frederick D.W., Davis J.G., Davila Jr. et al. Increasing NAD synthesis in muscle via nicotinamide phosphoribosyltransferase is not sufficient to promote oxidative metabolism // J. Biol. Chem. 2015. № 290. P. 1546–1558.

30. *Frederick D.W., Loro E., Liu L. et al.* Loss of NAD homeostasis leads to progressive and reversible degeneration of skeletal muscle // *Cell Metab.* 2016. V. 24. P. 269–282.
31. *Friebe D., Neef M., Kratzsch J. et al.* Leucocytes are a major source of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/pre-B cell colony (PBEF)/visfatin linking obesity and inflammation in humans // *Diabetologia.* 2011. № 54. P. 1200–1211.
32. *Garten A., Schuster S., Penke M. et al.* Physiological and pathophysiological roles of NAMPT and NAD metabolism // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015. V. 11. № 9. P. 535–546.  
<https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.117>
33. *Ghosh D., Levault K.R., Brewer G.J.* Relative importance of redox buffers GSH and NAD(P)H in age-related neurodegeneration and Alzheimer disease-like mouse neurons // *Aging Cell.* 2014. V. 13. P. 631–640.
34. *Gong B., Pan Y., Vempati P. et al.* Nicotinamide riboside restores cognition through an upregulation of proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1alpha regulated beta-secretase 1 degradation and mitochondrial gene expression in Alzheimer's mouse models // *Neurobiol. Aging.* 2013. V. 34. P. 1581–1588.
35. *Gulshan M., Yaku K., Okabe K. et al.* Overexpression of Nmnat3 efficiently increases NAD and NGD levels and ameliorates age-associated insulin resistance // *Aging Cell.* 2018 V.17. № 4. e12798.  
<https://doi.org/10.1111/acel.12798>
36. *Hallschmid M., Randevara H., Tan B.K. et al.* Relationship between cerebrospinal fluid visfatin (PBEF/Nampt) levels and adiposity in humans // *Diabetes.* 2009. V.58. P. 637–640.
37. *Heilbronn L.K.* Clinical trials corner // *Nutr. Healthy Aging.* 2017. № 4. P. 193–194.
38. *Hou Y., Lautrup S., Cordonnier S. et al.* NAD(+) supplementation normalizes key Alzheimer's features and DNA damage responses in a new AD mouse model with introduced DNA repair deficiency // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2018. V. 115. E1876–E1885.
39. *Imai S.* “Clocks” in the NAD World: NAD as a metabolic oscillator for the regulation of metabolism and aging // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. V. 1804. № 8. P. 1584–1590.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.10.024>
40. *Imai S.* The NAD World 2.0: the importance of the inter-tissue communication mediated by NAMPT/NAD+/SIRT1 in mammalian aging and longevity control // *NPJ Syst. Biol. Appl.* 2016. V.1 8. № 2. P. 16018.
41. *Imai S.* The NAD World: a new systemic regulatory network for metabolism and aging—Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance // *Cell Biochem. Biophys.* 2009. V. 53. № 2. P. 65–74.
42. *Jansen I.E., Ye H., Heetveld S., Lechler M.C. et al.* Discovery and functional prioritization of Parkinson's disease candidate genes from large-scale whole exome sequencing // *Genome Biol.* 2017. V. 18. № 22. P. 164–169.
43. *Jing Z., Xing J., Chen X. et al.* Neuronal NAMPT is released after cerebral ischemia and protects against white matter injury // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2014. V. 34. № 10. P. 1613–1621.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.119>
44. *Johnson S., Wozniak D.F., Imai S.* CA1 Nampt knock-down recapitulates hippocampal cognitive phenotypes in old mice which nicotinamide mononucleotide improves // *NPJ Aging Mech. Dis.* 2018. V. 8. № 4. P. 10–16.  
<https://doi.org/10.1038/s41514-018-0029-z>
45. *Lundt S., Zhang N., Wang X. et al.* The effect of NAMPT deletion in projection neurons on the function and structure of neuromuscular junction (NMJ) in mice // *Sci Rep.* 2020 V. 10. № 1. P. 99.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-57085-4>
46. *Mäkelä J., Tselykh T.V., Maiorana F. et al.* Fibroblast growth factor-21 enhances mitochondrial functions and increases the activity of PGC-1α in human dopaminergic neurons via Sirtuin-1 // *Springer Plus.* 2014. V. 2. № 3. P. 214.  
<https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-2>
47. *Martens C.R., Denman B.A., Mazzo M.R. et al.* Chronic nicotinamide riboside supplementation is well-tolerated and elevates NAD(+) in healthy middle-aged and older adults // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. P. 1286–1292.
48. *Mills K.F., Yoshida S., Stein L.R., et al.* Long-Term Administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice // *Cell Metab.* 2016. V. 24. P. 795–806.
49. *Musiek E.S., Xiong D.D., Patel T. et al.* 2016. Nmnat1 protects neuronal function without altering phospho-tau pathology in a mouse model of tauopathy // *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2013. V. 3. P. 434–442.
50. *Oakey L.A., Fletcher R.S., Elhassan Y.S. et al.* Metabolic tracing reveals novel adaptations to skeletal muscle cell energy production pathways in response to NAD + depletion. Version 2 // *Wellcome Open Res.* 2019. V. 3. P. 147–149.
51. *Petrzilka S., Taraborrelli C., Cavadini G. et al.* Clock gene modulation by TNF-alpha depends on calcium and p38 MAP kinase signaling // *J. Biol. Rhythms.* 2009. V. 24. P. 283–294.
52. *Pillai V.B., Sundaresan N.R., Kim G. et al.* Nampt secreted from cardiomyocytes promotes development of cardiac hypertrophy and adverse ventricular remodeling // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. V. 304. P. 415–426.
53. *Quarona V., Zaccarell G., Chillemi A. et al.* CD38 and CD157: a long journey from activation markers to multifunctional molecules // *Cytometry B Clin. Cytom.* 2013. V. 84. P. 207–217.
54. *Rajman L., Chwalek K., Sinclair D.A.* Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the in vivo evidence // *Cell Metab.* 2018 V. 27 P. 529–547.
55. *Ramsey K.M., Yoshino J., Brace C.S. et al.* J. Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD+ biosynthesis // *Science.* 2009. V. 324. P. 651–654.
56. *Ratajczak J., Joffraud M., Trammell S.A. et al.* NRK1 controls nicotinamide mononucleotide and nicotinamide riboside metabolism in mammalian cells // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 13103.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms13103>

57. *Riammer S., Garten A., Schaab M. et al.* Nicotinamide phosphoribosyltransferase production in human spermatozoa is influenced by maturation stage // *Andrology*. 2016. V. 4. P. 1045–1053.
58. *Rossi F., Geiszler P.C., Meng W. et al.* NAD-biosynthetic enzyme NMNAT1 reduces early behavioral impairment in the tau mouse model of tauopathy // *Behav. Brain Res.* 2018. V. 339. P. 140–152.
59. *Ryu D., Zhang H., Ropelle E.R., Sorrentino V. et al.* NAD<sup>+</sup> repletion improves muscle function in muscular dystrophy and counters global PARylation // *Sci. Transl. Med.* 2016. V. 8. № 361. P. 139–145.
60. *Sasaki T., Kikuchi O., Shimpuku M. et al.* Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice // *Diabetologia*. 2014. V. 57. P. 819–831.
61. *Schöndorf D.C., Ivanyuk D., Baden P. et al.* The NAD<sup>+</sup> precursor nicotinamide riboside rescues mitochondrial defects and neuronal loss in iPSC and fly models of Parkinson's disease // *Cell Rep.* 2018. Jun. V. 23. № 10. P. 2976–2988.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.009>
62. *Schuster S., Penke M., Gorski T. et al.* Resveratrol differentially regulates NAMPT and SIRT1 in Hepatocarcinoma cells and primary human hepatocytes // *PLoS One*. 2014. V. 9. e91045.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091045>
63. *Sociali G., Raffaghello L., Magnone M. et al.* Antitumor effect of combined NAMPT and CD73 inhibition in an ovarian cancer model // *Oncotarget*. 2016. V. 7. P. 2968–2984.
64. *Sorrentino V., Romani M., Mouchiroud L. et al.* Enhancing mitochondrial proteostasis reduces amyloid-beta proteotoxicity // *Nature*. 2017. V. 552. P. 187–193.
65. *Stein L.R., Imai S.* Specific ablation of Nampt in adult neural stem cells recapitulates their functional defects during aging // *EMBO J.* 2014. V. 33. P. 1321–1340.
66. *Stein L.R., Wozniak D.F., Dearborn J.T. et al.* Expression of Nampt in hippocampal and cortical excitatory neurons is critical for cognitive function // *J. Neurosci.* 2014. V. 34. № 17. P. 5800–5815.
67. *Stromsdorfer K.L., Yamaguchi S., Yoon M.J. et al.* NAMPT-Mediated NAD(+) biosynthesis in adipocytes regulates adipose tissue function and multi-organ insulin sensitivity in mice // *Cell Rep.* 2016. V. 16 № 7. P. 1851–1860.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.07.027>
68. *Trammell S.A., Schmidt M.S., Weidemann B.J. et al.* Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 12948.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms12948>
69. *Tsubota K.* The first human clinical study for NMN has started in Japan // *Npj Aging and Mechanisms of Disease*. 2016 V. 27. P. 21–60.  
<https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.21>
70. *Wang P., Guan Y.F., Du H. et al.* Induction of autophagy contributes to the neuroprotection of nicotinamide phosphoribosyltransferase in cerebral ischemia // *Autophagy*. 2012. V. 8. № 1. P. 77–87.  
<https://doi.org/10.4161/auto.8.1.18274>
71. *Wang P., Xu T.Y., Guan Y.F. et al.* Nicotinamide phosphoribosyltransferase protects against ischemic stroke through SIRT1-dependent adenosine monophosphate-activated kinase pathway // *Ann. Neurol.* 2011. V. 69. № 2. P. 360–374.  
<https://doi.org/10.1002/ana.22236>
72. *Wang S.N., Miao C.Y.* Targeting NAMPT as a therapeutic strategy against stroke // *Stroke Vasc. Neurol.* 2019. V. 4. № 2. P. 83–89.  
<https://doi.org/10.1136/svn-2018-000199>
73. *Wang X., Hu X., Yang Y. et al.* 2016. Nicotinamide mononucleotide protects against beta-amyloid oligomer-induced cognitive impairment and neuronal death // *Brain Res.* 2016. № 1643. P. 1–9.
74. *Wang X., Zhang Q., Bao R. et al.* Deletion of Nampt in projection neurons of adult mice leads to motor dysfunction, neurodegeneration, and death // *Cell Rep.* 2017. V. 20. № 9. P. 2184–2200.
75. *Wang X., Zhang Z., Zhang N. et al.* Subcellular NAMPT-mediated NAD<sup>+</sup> salvage pathways and their roles in bioenergetics and neuronal protection after ischemic injury // *J. Neurochem.* 2019. V. 151. № 6. P. 732–748.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.14878>
76. *Wang X., Li H., Ding S.* Pre-B-cell colony-enhancing factor protects against apoptotic neuronal death and mitochondrial damage in ischemia // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 32416.  
<https://doi.org/10.1038/srep32416>
77. *Xie X., Gao Y., Zeng M. et al.* Nicotinamide ribose ameliorates cognitive impairment of aged and Alzheimer's disease model mice // *Metab. Brain Dis.* 2019. V. 34. № 1. P. 353–366.
78. *Xing S., Hu Y., Huang X. et al.* Nicotinamide phosphoribosyltransferase-related signaling pathway in early Alzheimer's disease mouse models // *Mol. Med. Rep.* 2019. V. 20. № 6. P. 5163–5171.  
<https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10782>
79. *Yaku K., Okabe K., Nakagawa T.* Simultaneous measurement of NAD metabolome in aged mice tissue using liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC/MS/MS) // *Biomed. Chromatogr.* 2018. V. 32. e4205.  
<https://doi.org/10.1002/bmc.4205>
80. *Yamaguchi S., Franczyk M.P., Chondronikola M. et al.* Adipose tissue NAD<sup>+</sup> biosynthesis is required for regulating adaptive thermogenesis and whole-body energy homeostasis in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2019. V. 116. № 47. P. 23822–23828.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1909917116>
81. *Yano M., Akazawa H., Oka T. et al.* Monocyte-derived extracellular Nampt-dependent biosynthesis of NAD(+) protects the heart against pressure overload // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 15857–15864.
82. *Yao Z., Yang W., Gao Z. et al.* Nicotinamide mononucleotide inhibits JNK activation to reverse Alzheimer disease // *Neurosci. Lett.* 2017. V. 647. P. 133–140.
83. *Yoon M.J., Yoshida M., Johnson S. et al.* SIRT1-mediated eNAMPT secretion from adipose tissue regulates hypothalamic NAD<sup>+</sup> and function in mice // *Cell Metab.* 2015. V. 21. P. 706–717.

84. Yoshida M., Satoh A., Lin J.B. et al. Extracellular Vesicle-Contained eNAMPT Delays Aging and Extends Lifespan in Mice // *Cell Metab.* 2019. V. 30. № 2. P. 329–342.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.015>
85. Yoshino J., Baur J.A., Imai S.I. NAD<sup>+</sup> Intermediates: The Biology and Therapeutic Potential of NMN and NR // *Cell Metab.* 2018. V. 27. № 3. P. 513–528. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.11.002>
86. Yoshino J., Mills K.F., Yoon M.J. et al. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD(+) intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice // *Cell Metab.* 2011. V. 14. P. 528–536.
87. Yu A., Zhou R., Xia B. et al. NAMPT maintains mitochondria content via NRF2-PPAR $\alpha$ /AMPK $\alpha$  pathway to promote cell survival under oxidative stress // *Cell Signal.* 2020. V. 66. P. 109–496. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109496>
88. Zhang H., Ryu D., Wu Y. et al. NAD(+) repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice // *Science.* 2016. V. 352. P. 1436–1443.
89. Zhang H., Ryu D., Wu Y. et al. NAD<sup>+</sup> repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice // *Science.* 2016. V. 352. № 6292. P. 1436–1443.
90. Zhang M., Ying W. NAD<sup>+</sup> Deficiency Is a Common Central Pathological Factor of a Number of Diseases and Aging: Mechanisms and Therapeutic Implications // *Antioxid. Redox Signal.* 2019. V. 30. № 6. P. 890–905. <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7445>

## NAMPT, NAD, Cognitive Function and Longevity

**B. I. Kuznik<sup>1,2</sup>, S. O. Davidov<sup>1,2</sup>, N. I. Chalisova<sup>3,4</sup>, N. S. Linkova<sup>3,5,6,\*</sup>, and O. M. Ivko<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Department of the Normal Physiology, Chita State Medical Academy, Chita, Russia

<sup>2</sup> Innovation Clinic “Academy of Health”, Chita, Russia

<sup>3</sup> Department of Biogerontology St. Petersburg Bioregulation and Gerontology Institute, St. Petersburg, Russia

<sup>4</sup> The Group of Peptide Regulation of Aging, Pavlov Institute of Physiology of RAS, St. Petersburg, Russia

<sup>5</sup> Department of Therapy, Geriatrics, and Anti-Aging Medicine, Academy of Postgraduate Education under FSBU FSCC of FMBA of Russia, Moscow, Russia

<sup>6</sup> The laboratory of Aging problems of Belgorod National Research University, Belgorod, Russia

\*e-mail: miayy@yandex.ru

**Abstract**—Since the increasing of life time the actual point of molecular medicine is the investigation of new ways for treatment of the age-related pathology, including the neurodegenerative diseases. Concentration of nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT), the limiting chain of energy cell metabolism, decreases in blood and tissues during aging. Therefore, the synthesis of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), which is necessary for energy metabolism, decreases during cell senescence. The NAMPT and NAD concentration is decreased in the в liver, kidney, muscles, fat tissue, myocardium and CNS structures during aging. It was established in the experimental mice that the overexpression of NAMPT recovers the NAD content and provides the organism rejuvenation. It is possible to use NAMPT, stimulating NAD synthesis, for the aging prevention. The decrease of NAMPT and NAD expression is occurring by the neurodegenerative diseases, namely by Alzheimer, Parkinson diseases, by dementia and cognitive function destruction. It was established, that NAD precursor Nicotinamide riboside (NR) can increase the NAD level in the cells and organism. NR, as NAD, secure precursor can have a positive effect on the recovering of cognitive functions be the different neurodegenerative diseases, associated with aging.

**Keywords:** NAMPT, NAD, aging, cognitive functions, neurodegenerative diseases

УДК 616-006

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

© 2021 г. А. Ф. Повещенко<sup>а</sup>, В. И. Коненков<sup>а</sup>, А. Ю. Летягин<sup>а</sup>, Г. А. Шкурат<sup>а</sup>, \*

<sup>а</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения “Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”, Новосибирск, 630117 Россия

\*e-mail: gashkurat2016@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.07.2020 г.

После доработки 18.08.2020 г.

Принята к публикации 02.09.2020 г.

Биомолекулы, которые секретируются клетками опухоли, или другими клетками организма в ответ на опухоль, используются в клинической практике в качестве опухолевых биомаркеров. К ним относят протеины, ДНК- и РНК-молекулы, а также другие типы биомолекул. В данном обзоре анализируются современные данные о протеиновых, а также ДНК- и РНК-биомаркерах различных злокачественных новообразований.

**Ключевые слова:** биомаркеры, злокачественные новообразования

**DOI:** 10.31857/S030117982103005X

Злокачественные новообразования (ЗНО) – проблема высокой социальной значимости. Они являются одной из основных причин смерти и инвалидизации населения в различных странах.

Стратегия борьбы с ЗНО заключается в комплексе профилактических, диагностических и лечебных мер. Они направлены на выявление предраковых состояний и повышение эффективности их лечения; на обнаружение опухолевого процесса на возможно более ранней стадии; на диагностику и прогноз онкологических заболеваний; на анализ агрессивности злокачественных новообразований; на обеспечение своевременности и повышение эффективности персонализированного лечения онкологических заболеваний [3, 7, 25, 38, 65, 82, 83, 87]. Эффективными инструментами профилактики, диагностики и лечения ЗНО являются биологические маркеры (биомаркеры).

Биологические маркеры, согласно определению *National Cancer Institute*, являются биологическими молекулами, обнаруженными в тканях организма, в крови и в других биологических жидкостях и сигнализирующие о развитии нормального или патологического процесса, а также о состоянии здоровья или болезни [55]. Появление в орга-

низме биомаркеров связано с рядом факторов, включающих герминативные и соматические мутации, транскрипционные изменения и посттрансляционные модификации [55].

Выявлено огромное разнообразие биомаркеров. К ним относятся нуклеиновые кислоты (например, ядерная ДНК, митохондриальная ДНК, микроРНК и другие некодирующие РНК), протеины (например, антигены, ферменты или рецепторы), пептиды и другие категории биомолекул. Биомаркеры могут появиться в результате нарушений на геномном, протеомном и метаболическом уровне. Обнаружить биомаркеры можно в циркуляторном русле и различных выделениях (стул, моча, слюна, выделениях из соска), поэтому возможны неинвазивные и серийные методы их исследования. Кроме того, с помощью биопсии или современных методов визуализации проводится биомаркерный анализ тканевых образцов [55].

Опухолевыми биомаркерами (ОБМ) в настоящее время принято считать биомолекулы, которые продуцируются или клетками опухоли, или другими клетками организма в ответ на опухоль [104]. Однако некоторые исследователи [110] считают, что к опухолевым маркерам следует относить и различные методы визуализации ЗНО.

**Сокращения:** ЗНО – злокачественные новообразования; ОБМ – опухолевые биомаркеры; SNP – однонуклеотидные полиморфизмы; цвгДНК – циркулирующая внеклеточная геномная ДНК; цвкДНК – циркулирующей внеклеточной ДНК; мтДНК – митохондриальная ДНК; *ncRNAs* – некодирующие РНК; *lncRNAs* – длинные РНК; *circRNAs* – кольцевые РНК.

Изучение механизмов канцерогенеза позволяет понять причины появления, продукции и секреции опухолевых маркеров в клетках опухоли, крови и (или) в других биологических жидкостях организма, а также количественное изменение их уровня при инициации, развитии опухолевого процесса и метастазировании.

Принято считать, что повышение уровня ОБМ в организме обусловлено тремя механизмами. Первый механизм включает в себя повышенную экспрессию или амплификацию генных продуктов, рост эпигенетических изменений. Вторым механизмом является увеличение секреции клетками опухоли протеинов или в слущивании (shedding) протеинов с клеточной мембраны. Третий механизм включает в себя процессы клеточной инвазии и ангиогенез [104].

В настоящее время отсутствует общепризнанная классификация опухолевых биомаркеров (ОБМ), несмотря на попытки ее создания различными исследователями [37, 50, 70, 92, 129].

Один из вариантов классификации рассматривается в работе [92]. Mishra A. и соавт. предлагают все ОБМ разделить условно на три типа: первый — на основании стадии заболевания, второй — на основании молекулярной природы ОБМ, третий — на основании других критериев. При этом авторы подчеркивают, что одни и те же маркеры могут относиться к разным типам. К первому типу авторы отнесли прогностические, детекционные, диагностические и предиктивные биомаркеры. Прогностические биомаркеры, позволяющие выявить различия между доброкачественными и злокачественными опухолями [92], отражают естественную историю развития опухоли и предоставляют информацию о вероятном исходе и прогнозе независимо от специфического лечения. Предиктивные биомаркеры, или маркеры ответа, используются исключительно для анализа эффективности проводимого медикаментозного лечения и являются тестом на чувствительность или резистентность опухоли к данному лечению. Диагностические маркеры позволяют у конкретного пациента выявить наличие заболевания и его стадии [4, 6, 92]. Детекционные маркеры используются для скрининга групп пациентов с целью выявления ЗНО на ранних стадиях [62].

К молекулярным биомаркерам ряд авторов отнесли протеиновые, ДНК- и РНК-маркеры, а также другие виды биомаркеров (метаболические и экзосомальные маркеры, летучие органические соединения) [62, 92, 126].

## ПРОТЕИНОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ

Протеины являются ключевым звеном молекулярных сигнальных путей в нормальных и трансформированных клетках. Они непосред-

ственно связаны с инициацией и прогрессированием опухолей и поэтому протеиновые биомаркеры (пБМ) широко используются для диагностики и прогнозирования онкологических заболеваний. В клинической практике США применяются только одобренные FDA (Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов) биомаркеры [92].

Протеиновые биомаркеры можно разделить на следующие классы: онкофетальные антигены (CEA, AFP и др.); гликопротеиновые антигены (CA 125, CA 19.9, CA 15-3 и др.); ферменты (PSA, ALP, NSE и др.); гормональные рецепторы (ER, PR,  $\beta$ -hCG, calcitonin и др.); другие биомолекулы (VMA, 5HIAA и др.) [127].

Применение протеиновых биомаркеров в клинической практике сталкивается с рядом проблем: ранняя диагностика затруднительна, так как низкий уровень маркеров имеется и у здоровых людей; лишь опухоли больших размеров сопровождаются значительным увеличением экспрессии протеиновых маркеров по сравнению с нормальным уровнем; у некоторых пациентов, имеющих злокачественное новообразование, уровень маркеров не отличается от нормальных показателей; повышенный уровень маркера может быть вызван причинами, не связанными с канцерогенезом. Однако комбинированное использование большого числа опухолевых маркеров является эффективным средством клинического анализа онкологических заболеваний. Кроме того, в настоящее время появляются новые онкомаркеры, характеризующиеся высокой чувствительностью и специфичностью [56].

Для ранней диагностики ЗНО у пациентов, находящихся в группе высокого риска онкологических заболеваний, используют протеиновые биомаркеры (пБМ). С этой целью наиболее часто применяется альфа-фетопротеин (гепатоцеллюлярный рак, герминогенные опухоли); бета-хорионический гонадотропин человека (рак яичка, хориокарцинома); бета-2-микроглобулин (множественная миелома, хронический лимфоцитарный лейкоз, некоторые лимфомы); CA-125 (рак яичника); CA-15.3, CA27-7.29 (рак молочной железы); CA-19.9 (рак поджелудочной железы, желчного пузыря, желчных протоков, желудка); CD20 (неходжкинская лимфома); Calcitonin (медулярный рак щитовидной железы); раково-эмбриональный антиген (рак яичника, шейки матки, молочной железы, легких, опухоли мочевыводящих путей, желудочно-кишечного тракта); лактатдегидрогеназа (герминогенные опухоли); простатический специфический антиген (рак простаты). Однако простатический специфический антиген, раково-эмбриональный антиген и CA-15.3, CA27-7.29 не обладают достаточной специфичностью и чувствительностью для диагно-

стики рака простаты и обнаружения рецидива рака молочной железы [110].

В клинической практике в настоящее время используется широкий спектр онкомаркеров: Тг (тиреоглобулин) при раке щитовидной железы;  $\beta$ 2М (бета-2-микроглобулин) и тимидинкиназа (ТК) – при множественной миеломе и хроническом лимфоцитарном лейкозе; раково-эмбриональный антиген (СЕА) при колоректальном раке, раке желудка и поджелудочной железы, раке молочной железы, немелкоклеточном раке легких, раке щитовидной железы; раковый антиген 125(СА 125) – при раке яичников, молочной железы, канцероматозе брюшины; человеческий эпидидимальный протеин 4 (HE4) – при раке тела матки, яичника, немелкоклеточном раке легких; бета-хорионический гонадотропин (Beta-HCG) – при герминогенных опухолях, хориокарциноме, уротелиальном раке; AFP (*alpha-fetoprotein*) – при гепатоцеллюлярной карциноме и герминогенных опухолях; эстрогеновый рецептор (ER), прогестероновый рецептор (PR) и рецептор эпидермального фактора роста-2 (HER 2) – при раке молочной железы; СА 15-3 – при раке молочной железы, немелкоклеточном раке легких; СА 19-9 – при раке поджелудочной железы, раке желчевыводящей системы; СА 72-4 – при муцинозном раке яичников; CYFRA 21-1 – при раке поджелудочной железы, немелкоклеточном раке легких, раке мочевого пузыря, раке пищевода; S100 – при меланоме; NSE – при нейробластоме, мелкоклеточном раке легких; ProGRP – мелкоклеточный рак легких, медуллярный рак щитовидной железы; Chromogranin A – при нейроэндокринных опухолях, мелкоклеточном раке легких; PSA/free PSA – при раке простаты; SCCA, Her-2-neu – при раке молочной железы; тиреоглобулин – при раке щитовидной железы [56, 68, 126]; использование AFP-L3% (*lens culinaris agglutinin (LCA)-reactive alpha-fetoprotein percentage of total AFP concentration*) совместно с альфа-фетопротеином может служить вспомогательным диагностическим маркером для гепатоцеллюлярного рака [15, 76].

В настоящее время список потенциальных биомаркеров можно дополнить рибосомальными протеинами [51, 126], клаудинами (*Claudin*), присутствующим в экзосомах, выделенных из плазмы больных раком яичника [51, 78, 126]; глипиканом-1, позволяющим с высокой специфичностью и чувствительностью диагностировать рак яичника [27, 88]. Сывороточные CD147/CD9-дважды-позитивные экзосомы обнаруживаются у больных колоректальным раком на ранней стадии (T1 стадия по UICC классификации), кроме того, уровень сывороточных CD147/CD9-дважды-позитивных экзосом может быть использован для анализа результатов хирургического лечения и химиотерапии этого вида онкологического заболевания [140].

Некоторые биомаркеры (гипергликозилированный хорионический гонадотропин человека (hCG),  $\alpha$ -1-антитрипсин, фукозилированный гаптоглобин, YKL-40) из-за низкой специфичности или чувствительности процедуру валидации не прошли [68].

## ДНК-МАРКЕРЫ

ДНК-маркеры, используемые в онкологической практике можно разделить на генетические и эпигенетические [64, 92]. К генетическим ДНК-маркерам различные авторы относят инсерции, делеции, однонуклеотидные полиморфизмы (*SNP*), короткие tandemные повороты, эксцизионную репарацию нуклеотидов, (*Nucleotide Excision Repair*, NER); потерю гетерозиготности, (*Loss of heterozygosity* (LOH)); микросателлитную нестабильность (*Microsatellite instability* (MSI)); потерю гетерозиготности (LOH); вариации числа копий генов; хромосомные aberrации, мутации в митохондриальной ДНК, генетические изменения в циркулирующей ДНК опухолевого происхождения и другие.

Большую группу ДНК-маркеров составляют однонуклеотидные полиморфизмы (*SNP*). В эту многочисленную группу входят такие ДНК-маркеры, как *XRCC1*, *ATM*, *p53* (рак легкого, опухоли головы и шеи), *CYP1A1*, *RAD1*, *BRCA1* и *BRCA2* (рак молочной железы); и *PGS2* (рак легкого) [92].

Значительную группу составляют ДНК-маркеры с потерей гетерозиготности (LOH); вариацию числа копий генов; хромосомные aberrации, например, транслокации/слияния *BCR-ABL*, *PML-RARA* при лейкомиях; микросателлитную нестабильность (*MSI*).

Диагностика и прогноз различных ЗНО зависит также от наличия мутации (мутаций) в нуклеотидах проонкогенов (семейство *Ras*, *EGFR*), в генах-супрессорах опухолей (*p16*, *p53*, *p19*, *Rb*, *APC*), в коротких tandemных повторах в генах, кодирующих циклины, а также в генах, связанных с репарацией ДНК (*XRCC*) [126].

Эпигенетические модификации ДНК и ассоциированных с ней протеинов (гистонах и негистонах) являются важными факторами канцерогенеза [92, 109]. К ним относятся метилирование и гидроксиметилирование (*hydroxymethylation*) ДНК, ацетилирование и метилирование гистонов, репарации в генах (например, *MLH1* или *O6-methylguanine-DNA methyltransferase gene*, *MGMT*) ошибочно спаренных нуклеотидов.

В патогенезе многих злокачественных новообразований важную роль играет вызванный метилированием сайленсинг генов-супрессоров *RAR- $\beta$ 2*, *ARHI*, *p16*, *TP53*, а также регуляторов клеточного цикла *p21*, *p27*. Эпигенетический сайленсинг генов-онкосупрессоров приводит к ингибированию

нию апоптоза опухолевых клеток и стимулирует канцерогенез [109].

Сайлесинг генов различных генов, в том числе *CDKN2A*, *TP53*, *APC*, *BRCAl*, посредством метилирования CpG-островков ДНК является одним из наиболее изученных механизмов эпигенетических модификаций. Следует отметить, что на метилизацию процесса как правило указывает гипометилирование повторяющиеся последовательности ДНК, тогда как в нормальных соматических клетках постнатальных тканей этих структуры содержат относительно много 5-methyl cytosine ( $m^5C$ ).

При новообразовании опухоли и ее прогрессии почти всегда имеет место повышенное метилирование ДНК, поэтому выявленное увеличение показателя метилированных генов можно рассматривать как онкомаркер. Исследовать метилированную ДНК можно как в тканях, так и в различных биологических жидкостях (плазме, сыворотке, слюне, моче и др.). Кроме того, технологии выявления метилированной ДНК с каждым годом совершенствуются. Метилированно-специфичная ПЦР (*MSP*) позволяет анализировать сотни и тысячи ДНК-метилированных паттернов и определять наличие или отсутствие генетической активности в отдельной клетке или ткани. В настоящее время выявлено более 200 таких маркеров для диагностики основных видов опухолей человека [19, 104].

В настоящее время активно исследуются циркулирующая ядерная (нуклеарная) и митохондриальная ДНК при различных опухолевых заболеваниях. Циркулирующая внеклеточная геномная ДНК (цвкДНК) в норме и при патологии присутствует в биологических жидкостях организма в виде свободных фрагментов ДНК, макро-молекулярных структур (нуклеосом, ДНК-липидных комплексов, виртосом, ДНК-ловушек, связанных с сывороточными белками или с неклеточными мембранными фрагментами), в составе внеклеточных мембранных везикул (экзосом, микровезикул, апоптических телец) [97, 102, 123].

Уровень циркулирующей внеклеточной ДНК (цвкДНК) в плазме больных колоректальным раком, раком желудка, пищевода, легких, молочной железы значительно выше по сравнению с нормой [119]. Молекулярные изменения, выявленные при анализе цвкДНК, отражают генетические и эпигенетические изменения, характерные для клеточных ДНК первичных опухолей [49]. Наиболее часто в цвкДНК, выделенных из плазмы онкологических больных, обнаруживают такие молекулярные изменения, как снижение стабильности нитей ДНК, микросателлитные альтерации (потеря гетерозиготности или микросателлитная нестабильность), эпигенетические изменения

(гиперметилиция генов), специфические мутации в генах-супрессорах опухолей и онкогенах [118].

В настоящее время многочисленные работы посвящены изучению митохондрий и молекулярных изменений митохондриальной ДНК (мтДНК) при канцерогенезе [17, 21, 24, 43, 58, 66, 67, 114, 130].

В клетках млекопитающих митохондрии играют ключевую роль в синтезе АТФ и ГТФ, а также нуклеотидов, Fe-S-кластеров, гемов и аминокислот, в регуляции воспаления и апоптоза. В опухолевых клетках митохондрии также играют важную роль в регуляции метаболизма и клеточной смерти. Канцерогенез сопровождается генетическими и эпигенетическими изменениями мтДНК, увеличением продукции активных форм кислорода, снижением окислительного фосфорилирования и, соответственно, активацией аэробного гликолиза [21, 23, 43, 130].

В норме кольцевая двуцепочечная мтДНК человека состоит из 16 569 п.н. и кодирует 11 мРНК, 22 тРНК и 2 рРНК [43, 53]. 11 мРНК транслируют 13 протеинов, которые участвуют в окислительном фосфорилировании и входят в состав I, III, IV комплекса дыхательной цепи и АТФ-синтазы. мтДНК плотно упакована в хромосомоподобные структуры, нуклеоиды, белковый состав которых полностью не изучен [74, 40]. Только один протеин является общепризнанным — это коровый компонент нуклеоидов в клетках млекопитающих, митохондриальный транскрипционный фактор А (TFAM) [41, 53]. Нуклеоиды имеют сферическую форму размером около 100 нм и каждый из них содержит более одной копии мтДНК [53, 75]. мтДНК является полиплоидной, поскольку митохондрий содержит от пяти до десяти копий мтДНК, которые имеют между собой структурные отличия [128]. Клеточное содержание копий мтДНК колеблется от 100 до 10000 [20]. Цепи мтДНК отличаются между собой по нуклеотидному составу: в тяжелой цепи больше гуанинов, а в легкой — цитозинов. Уникальным свойством мтДНК является наличие контрольной (или главной некодирующей) области с так называемой смещенной петлей (*D*-петлей) (*displacement loop region*), структура и функция которых исследованы недостаточно. *D*-петля представляет собой трехцепочечный участок с коротким одноцепочечным фрагментом *7S DNA*. Некодирующая область является регуляторным сайтом репликации и транскрипции мтДНК. В некодирующей области содержится два промотора: промотор тяжелой *H*-цепи (*HSP*) и промотор легкой *L*-цепи (*LSP*), а также точка инициации репликации *H*-цепи (*On*). Точка инициации репликации (орижин) *L*-цепи (*OL*) находится вне некодирующей области на расстоянии около 11 kb от *On* [20, 21, 95, 114].

Репликация нитей мтДНК в клетках происходит постоянно и асинхронно при участии ДНК-полимеразы  $\gamma$  (POL $\gamma$ ) (гены *POLG1* и *POLG2*), митохондриального транскрипционного фактора А (*TFAM*), митохондриальной хеликазы *Twinkle* (*C10orf2*), белка *mtSSB*, митохондриальной топоизомеразы I (*TOP1MT*), митохондриальной 12S rRNA диметилазы 1 и митохондриальной 12S rRNA диметилазы 2 (*TFB1M* и *TFB2M*), митохондриальной РНК-полимеразы POLRMT (*POLRMT*) [43, 53, 128, 132, 133].

Ассиметричный механизм репликации мтДНК и, в меньшей степени, нарушения в ходе синтеза дочерних копий молекул мтДНК при помощи POL $\gamma$ , являются, вероятно, причиной мутагенеза [43].

Мутационные изменения мтДНК обнаружены в опухолевых клетках различных злокачественных новообразований. Анализ таких онкологических заболеваний, как рак легкого, рак головы и шеи, карцинома мочевого пузыря, почечно-клеточная карцинома, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак молочной железы, рак желудка, глиомы выявил мутации мтДНК [67]. Масштабный анализ солидных опухолей выявил в почти 60% опухолей наличие по крайней мере одной мутации [43, 63, 116]. Подавляющее большинство этих мутаций являются транзициями С > Т в H-цепи и Т > С в L-цепи [43].

Соматические мутации встречаются как в кодирующих, так и в контрольных областях мтДНК клеток различных опухолей [24, 32, 33, 42, 69]. Одной из "горячих" точек является регион D-петли (*np* 16024–516), мутации в котором могут приводить к изменению числа копий и экспрессии митохондриальных генов. При исследовании D-петли выявлены соматические мутации в этой области при уротелиальном раке (инделлы, однонуклеотидные замены), плоско-клеточном раке ротовой полости (точечные мутации, делеции, инсерции), при остром лимфобластном лейкозе (инсерции, однонуклеотидные замены), при гепатоцеллюлярном раке, раке желудка, раке легких, колоректальном раке [74, 141]. При анализе различных злокачественных опухолей часто выявляют мутации в *ND5* области. В *ND4* области мутации часто наблюдаются при раке простаты и раке легких, а в *COX1* часто находят мутации при раке молочной железы, раке шейки матки и раке мочевого пузыря [142]. Некоторые виды мутаций мтДНК, вероятно, могут в дальнейшем быть использованы в качестве биологических маркеров для выявления различных опухолей, в том числе на ранних стадиях [130].

При исследовании многих злокачественных опухолей (рак молочной железы, колоректальный рак, рак желудка, печени, почек, легких, яичника, простаты) обнаружено уменьшение числа ко-

пий мтДНК, а при хроническом лимфоцитарном лейкозе, лимфоме Беркитта, лимфоме Ходжкина, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфоме и папиллярной карциноме щитовидной железы, наоборот, выявлено увеличение содержания мтДНК [26].

Таким образом, патогенез онкологических заболеваний сопровождается количественными и качественными изменениями ядерной и митохондриальной ДНК. Их исследование с помощью современных технологий и использование в качестве биомаркеров является перспективным направлением в области клинической онкологии.

## РНК-МАРКЕРЫ

Значительную группу биомолекулярных маркеров составляют тканевые и циркулирующие РНК-маркеры [62].

Первоначально в качестве биомаркера использовалась матричная РНК для анализа дифференциальной экспрессии специфических генов при различной, в том числе онкологической, патологии. Мультигенные экспрессионные профили успешно были использованы в качестве прогностических маркеров при изучении различных ЗНО. Для классификации и прогноза рака молочной железы была успешно применена *PAM50* экспрессионная панель, а для предсказания появления метастазов и рецидивирования рака простаты использовалась другая (31 мРНК) панель, в которой анализировались мРНК, связанные с регуляцией генов клеточного цикла [30, 86, 139].

Использование высоко-производительных технологий секвенирования нового поколения позволило выявить различие между протеин-кодирующими РНК и различными классами некодирующих РНК (*ncRNAs*). Некодирующие *ncRNAs* (короткие, средние и длинные) являются результатом общей (pervasive) транскрипции и составляют большинство транскрибируемого генома млекопитающих. Они принимают участие в различных биологических процессах, в том числе в регуляции транскрипции и трансляции протеин-кодирующих РНК. Многие из них в настоящее время используются как биомаркеры [16, 22, 60, 139].

В настоящее время имеется несколько вариантов классификации некодирующих РНК. Santosh et al. [108] разделяют некодирующие РНК на *ncRNAs*, связанные с трансляцией (транспортные и рибосомальные РНК), на короткие и длинные *ncRNAs*.

Dahariya S и соав. все некодирующие РНК (*ncRNAs*) разделяют на 2 категории: структурные *ncRNAs* и регуляторные *ncRNAs* [31]. К структурным *ncRNAs* Dahariya S. и соав. относят транспортные и рибосомальные *ncRNAs*. Регулирующие

*ncRNAs* они разделяют на три класса: короткие (*small*), средние (*medium*) и длинные (*long non-coding RNAs*) [11, 31, 101]. К коротким РНК-ам относятся *miRNA*, *siRNA*, *piRNA*, *cisRNA*, *telsRNA* и другие *ncRNAs*, длина которых в пределах 20–50 нуклеотидов, к средним – *snoRNA*, *prompts*, *tiRNA*, *snRNA* и многие другие виды *ncRNAs*, размер которых в пределах 50–200 нуклеотидов. Большую группу *ncRNAs* с наибольшим регуляторным потенциалом составляют длинные РНК (*lncRNAs*), размер которых превышает 200 нуклеотидов. К ним относятся такие категории РНК, как интронные (*intronic RNA*), энхансерные (*enhancer RNA*), промоторные (*promoter RNA*), антисмысловые (*antisense RNA*), смысловые (*sence RNA*), межгенные (*intergenic RNA*) и другие (*lncRNAs*) [22, 31, 93, 96].

Наиболее подробная характеристика различных видов длинных *ncRNAs* представлена в обзоре Jagoux J. et al. [60]. Авторы предложили несколько вариантов классификации *lncRNAs*, основанных на таких критериях, как молекулярная длина, транскрипционные свойства, локализация по отношению к протеин-кодирующим генам и по отношению к регуляторным элементам генов.

В зависимости от длины *lncRNAs* они [60] различают длинные (*long*) или большие (*large lncRNAs*), очень большие межгенные *ncRNAs* (*vlincRNAs*) и макро *lncRNAs* (*macro lncRNAs*); от положения *lncRNAs* по отношению к генам, кодирующим белки – интронные, межгенные, энхансерные, антисмысловые, двунаправленные (*bidirectional*), перекрывающиеся, кольцевые; от расположения кодирующей *lncRNAs* последовательности по отношению к специфическим регуляторным элементам и локусам ДНК – псевдогенные *lncRNAs*, *T-UCR lncRNAs* (транскрипты ультраконсервативной области ДНК), *TERRA (lncRNAs*, транскрибируемые с теломер), центромерные *lncRNAs* (транскрипты центромерных последовательностей ДНК), *PALRs* (промотор-ассоциированные *lncRNAs*), энхансерные *lncRNAs*, *UTR-ассоциированные (ua)RNAs*.

Некодирующие РНК играют ключевую роль в различных механизмах регуляции генов, включая эпигенетическую регуляцию, X хромосомную инактивацию, геномный импринтинг, ядерный и цитоплазматический транспорт (*trafficking*), транскрипцию, мРНК-сплайсинг [10, 12, 90, 91]. *lncRNAs* участвуют во многих процессах, в том числе таких, как клеточная пролиферация и дифференциация, клеточный цикл, метаболизм, апоптоз, поддержание плюропотентности [10, 48, 135].

Некодирующие РНК, являющиеся важнейшими участниками различных физиологических процессов [12], вовлечены в патогенез многих заболеваний, например, атеросклероза, болезнь Альцгеймера, псориаза, аутоиммунного тиреоидита, онкологических заболеваний [28, 40, 45, 80, 125].

Огромное количество некодирующих РНК используется в качестве онкомаркеров. Среди них наиболее изученными являются микроРНК, составляющими менее 2% от общей РНК [34, 92].

МикроРНК являются небольшими некодирующими молекулами (около 22 пар нуклеотидов), регулирующими экспрессию почти 30% генов и играющими важную роль в регуляции клеточного цикла, дифференциации клеток и метаболических процессов.

Большинство генов микроРНК (около 70%) локализовано внутри интронов или экзонов протеинкодирующих генов, меньше – в межгенных областях (около 30%) [44]. Основной функцией микроРНК считается подавление экспрессии генов на посттранскрипционном уровне посредством связывания с участками в нетранслируемых областях мРНК [2]. МикроРНК регулирует экспрессию генов, воздействуя на трансляцию мРНК и ее деградацию. Этот регулирующий механизм зависит от степени комплементарности микроРНК к мРНК-мишени. Считается, что полная (или почти полная комплементарность запускает процесс деградации мРНК посредством комплекса *RISC*, в то время как при неполной комплементарности трансляция мРНК блокируется рибосомой [28]. Действия *RISC* можно разделить на два этапа – распознавание и осуществление регуляторного эффекта. За узнавание и связывание мишени отвечает комплементарное связывание участка узнавания (*seed*) в микроРНК и узнаваемого участка (*seed-match* или *miRNA response element – MRE*) в мРНК. Канонические участки узнавания включают нуклеотиды 2–7 или 2–8 с 5'-конца микроРНК, связывание которых может дополнительно подкрепляться неканоническим спариванием первого нуклеотида с 5'-конца микроРНК с аденозином мРНК-мишени. В комплексах, образованных участком узнавания и мишенью часто присутствуют ошибочно спаренные и “вывернутые” основания, причем это может играть важную функциональную роль в механизме узнавания мишени. В силу особенностей узнавания мишеней, большинство микроРНК не обладает строгой специфичностью и способны регулировать до 200–500 мРНК-мишеней. Молекулы мРНК могут содержать множественные сайты узнавания микроРНК, которые являются синергистами или антагонистами. Гибкость и конкурентность узнавания и связывания мишени приводят к формированию сложных регуляторных сетей, вовлекающих большое число экспрессируемых мРНК [2, 8, 105]. Нарушение регуляторных функций микроРНК приводит к появлению различных, в том числе онкологических, заболеваний [47].

В многочисленных работах имеются данные об участии микроРНК в различных канцер-ассо-

циативных процессах, таких как пролиферация, дифференциация, апоптоз, метаболизм, инвазия и лекарственная резистентность. Специфический экспрессионный профиль микроРНК формируется при канцерогенезе, для которого характерно увеличение экспрессии микроРНК, связанных с опухолевым ростом, и снижение экспрессии микроРНК-супрессоров [28].

МикроРНК характеризуются тканевой специфичностью и различные опухоли имеют специфические экспрессионные профили этого вида нуклеиновых кислот. Кроме того, микроРНК присутствует в крови, моче, слюне, спинномозговой и других биологических жидкостях в виде свободно циркулирующих молекул (очень часто ассоциированных с протеинами, особенно, с *Argonaute 2*, *GW182*, и *nucleophosmin1 (NPM1)*, или внутри экзосом, микровезикул или апоптических телец [98, 97, 12, 136]. В плазме небольшое количество экстрацеллюлярной микроРНК (около 10%) находится связанной с липопротеинами высокой и низкой плотности [2, 5, 28]. Кроме того, в плазме, спино-мозговой жидкости, слюне, моче и других биологических жидкостях [73, 106, 124] циркулируют устойчивые к деградации РНКазами экзосомальные микроРНК. Экспрессионный профиль этих микроРНК в различных биологических жидкостях можно использовать для диагностики опухолей. Например, *EpCAM*-положительные экзосомы выявляются на всех стадиях рака яичника, а экспрессионный профиль экзосомальных miR-21, miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-203, miR-205 и miR-214 может служить биомаркером этого заболевания, так в условиях нормы эти микроРНК не обнаруживаются [122].

Экспрессия тканеспецифических популяций микроРНК ассоциируется с клиническими проявлениями различных онкологических заболеваний [2, 28, 92, 99]. Например, сочетанный анализ miR-145 и miR-451 позволяет отличить больных раком молочной железы как от здоровых людей, так и от больных раком печени, легкого, колоректальным раком [28]. MiR-429 может выступать в качестве диагностического маркера при раке легкого, тела матки и простаты. В тканевых образцах этих опухолей уровень ее экспрессии значительно выше по сравнению с нормальной тканью эндометрия. С другой стороны, в таких опухолях как почечно-клеточная аденокарцинома, рак молочной железы, аденокарцинома желудка, рак пищевода, остеосаркома, плоскоклеточный рак полости рта, рак шейки матки, рак поджелудочной железы, плоско-клеточный рак языка, нефробластома, рак носоглотки, саркомы мягких тканей уровень экспрессии miR-429 снижен и ее экспрессионный профиль можно использовать как негативный индикатор развития, прогрессии,

прогноза, пролиферации, метастазирования и лекарственной устойчивости этих опухолей [52].

Циркулирующие микроРНК в качестве биомаркеров используются для ранней онкологической диагностики, а также в качестве прогностических и предиктивных критериев [28, 72, 124].

С диагностической целью при раке носоглотки, пищевода, поджелудочной железы, желудка, гортани, мочевого пузыря, эндометрия, шейки матки, молочной железы, а также при гепатоцеллюлярном, колоректальном, почечно-клеточном раке, немелкоклеточном раке легких, лимфоме Ходжкина, хронических и острых лейкозах и других онкологических заболеваниях используются различные виды микроРНК и другие виды коротких некодирующих белки РНК, таких как piwi-взаимодействующие РНК (*piwi-interacting RNAs*), малые ядерные РНК (*snRNAs*), малые ядрышковые РНК (*snoRNAs*) [28].

В настоящее время кроме микроРНК в качестве онкологических биомаркеров рассматриваются длинные *ncRNAs (lncRNAs)* и кольцевые РНК [1, 99]. В качестве диагностических биомаркеров используются *HOTAIR* (плоскоклеточный рак слизистой оболочки полости рта, колоректальный рак, рак поджелудочной железы), *PCAT-1* (рак мочевого пузыря), *UCA1* (гепатоцеллюлярная карцинома), *MALAT1* (аденокарцинома легкого, рак молочной железы, колоректальный рак), *ANRIL* (немелкоклеточный рак легкого), *ZFAS1* (рак желудка), *HULC* (гепатоцеллюлярный рак) и многие другие *lncRNAs*. Большинство циркулирующих днРНК исследуются в плазме (сыворотке), но в меньшей степени в моче, желудочном соке, желчи, слюне [44, 46, 99, 107, 113, 143, 145].

В последние годы активно изучаются кольцевые РНК и их использование в качестве маркеров при различных онкологических заболеваниях [79, 99].

Кольцевые РНК (*circRNAs*) относятся к отдельному виду эндогенных некодирующих РНК, устойчивых к действию РНКаз и характеризующихся кольцевой структурой. Около 10% генов, транскрибируемых в клетках, могут продуцировать *circRNAs*. Образование *circRNAs* происходит в результате альтернативного бэксплайсинга пре-мРНК. Среди *circRNAs* выделяют 4 категории: экзонные *circRNAs (ecircRNA)*, циркулярные РНК из интронов (*ciRNAs*), экзон-интронные *circRNAs (EICIcRNA)*, и межгенные *circRNAs*. *CircRNAs* по сравнению с линейными РНК более устойчивы в периферической крови и ткани, и даже в экзосомах [9, 18, 36, 39, 79, 89].

*CircRNAs* выполняют разнообразные функции. Они являются молекулярными губками микроРНК, взаимодействуют с РНК связывающими протеинами, модулируют стабильность матричных РНК, регулируют транскрипцию генов. Эндогенные *circRNAs* могут быть транслированы в

протеины [9, 14, 29, 35, 54, 77, 85, 89, 94, 100, 112, 115, 117, 118, 138, 144].

Главной функцией *circRNAs* является регуляция экспрессии генов. *CircRNAs*, содержащие *MREs* (элементы ответа микроРНК), могут, подобно губкам (*sponges*), конкурентно абсорбировать микроРНК и таким образом менять функциональные свойства соответствующих микроРНК. В результате происходит ослабление ингибиторного воздействия на гены-мишени, вызывая увеличение их экспрессии. *CircRNAs* могут также связывать РНК-связывающие протеины (*RBP*s), такие как AGO, RNA polymerase II, QKI, EIF4A3, и MBL. Более того, связывая протеины, *circRNAs* могут выполнять каркасную функцию, способствуя взаимодействию между ферментами и их субстратами. *CircRNAs* могут связываться с рибосомами и быть транслированы в короткие протеины, содержащие функциональные домены. Благодаря взаимодействию с элементами сплайсосом и регулированию баланса между каноническим и альтернативным сплайсингом, *circRNAs* непосредственно оказывают влияние на экспрессию генов на транскрипционном и посттранскрипционном уровне [98, 102]. Участвуя в регуляции транскрипции генов, сплайсинга, взаимодействия с различными протеинами, кольцевые РНК вовлечены в процессы канцерогенеза различных опухолей [18, 36, 79, 89, 103, 115].

В настоящее время, несмотря на отсутствие ясного представления о роли *circRNAs* в развитии и прогрессии опухолевого процесса, исследователи считают эти нуклеиновые кислоты перспективными диагностическими биомаркерами различных опухолей [85, 103, 118, 136]. В отличие от линейных РНК кольцевые РНК (*circRNAs*) имеют закрытую высокостабильную структуру, устойчивую к разрушительному действию РНК эндонуклеаз (RNaseR). Более того, в тканевых образцах, плазме, слюне обнаруживаются четко-специфические и специфичные для определенных стадий канцерогенеза экспрессионные профили этой категории нуклеиновых кислот [85, 131]. Например, значительное увеличение *circCCDC66* в тканевых образцах колоректального рака указывает на плохой прогноз заболевания [57, 85]. Увеличение экспрессии *circSETDB1* обнаружено у больных с серозным раком яичников. Высокий уровень данной кольцевой РНК позволяет отличить здоровых людей от больных этой формой рака [85, 134]. Значительное увеличение экспрессионного уровня *circPVT1* в сыворотке и в клетках ткани остеосаркомы выявлено у пациентов с остеосаркомой [14, 71]. Анализ экспрессионного профиля *hsa\_circ\_0004277* показал значительное снижение экспрессии этой *circRNA* у больных острым миелоидным лейкозом [14, 81]. Достоверное увеличение в опухолевых клетках и плазме крови экспрессионного уровня *hsa\_circ\_0013958* выявлено

у пациентов с аденокарциномой легких [14, 146]. В ряде обзоров приводятся данные об исследовании биологических функций *circRNAs* и использовании этих молекул в качестве диагностических, прогностических и предиктивных биомаркеров онкологических заболеваний [14, 29, 77, 84, 85, 99, 112, 115, 117, 118].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время выявлено огромное количество биомаркеров, но раннее обнаружение злокачественных новообразований, анализ их агрессивности и чувствительности к проводимой терапии по-прежнему остается актуальной проблемой. Остается надеяться, что в ближайшем будущем появятся идеальные биомаркеры, которые будут в арсенале клинической онкологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дон Е.С., Тарасов А.В., Эпштейн О.И. и др. Биомаркеры в медицине: поиск, выбор, изучение и валидация // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 1. С. 52–59.
2. Запороженко И.А. МикроРНК плазмы крови в норме и при раке легкого, пробоподготовка, профилирование экспрессии, биоинформатический анализ и верификация потенциальных маркеров. / 2018. Диссер. ... уч. ст. к. б. н., 171 с.
3. Злокачественные новообразования в России обзор статистической информации за 1993–2013 гг. / под общей ред. Каприна А.Д., Старинского В.В. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ “НМИРЦ” Минздрава, 2015. 511 с.
4. Имянитов Е.Н. Принципы индивидуализации противоопухолевой терапии. // Практическая онкология. 2013. Т. 14. № 4. С. 187–194.
5. Петров А.М., Зефирова А.Л. Холестерин и липидные плотки биологических мембран. Роль в секреции, рецепции и функционировании ионных каналов // Успехи физиологических наук. 2013. Т. 44. № 1. С. 17–38.
6. Ракул С.А., Камилова Т.А., Голота А.С. и др. Прогностические и предиктивные биомаркеры рака предстательной железы (обзор литературы) // Онкоурология. 2017. Т. 13. № 4. С. 111–121.
7. Черезов А.Е. Общая теория рака: тканевый подход. / М.: Изд-во МГУ, 1997. 252 с.
8. Afonso-Grunz F., Müller S. Principles of miRNA-mRNA interactions: beyond sequence complementarity. // Cell Mol. Life Sci. 2015. V. 72. № 16. P. 3127–3141.
9. Agostini M., Ganini C., Candi E. et al. The role of non-coding RNAs in epithelial cancer // Cell Death Discov. 2020. V. 6. P. 13.
10. Akhade V.S., Pal D., Kanduri C. Long Noncoding RNA: Genome Organization and Mechanism of Action // Adv. Exp. Med. Biol. 2017. V. 1008. P. 47–74.
11. Alvarez-Dominguez J.R., Lodish H.F. Emerging mechanisms of long noncoding RNA function during normal and malignant hematopoiesis // Blood. 2017. V. 130. № 18. P. 1965–1975.

12. Anastasiadou E., Jacob L.S., Slack F.J. Non-coding RNA networks in cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2018. V. 18. № 1. P. 5–18.
13. Anfossi S., Fu X., Nagvekar R., Calin G.A. MicroRNAs, regulatory messengers inside and outside cancer cells // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018. V. 1056. P. 87–108.
14. Bach D.H., Lee S.K., Sood A.K. Circular RNAs in cancer // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2019. V. 16. P. 118–129.
15. Belczacka I., Latosinska A., Metzger J. et al. Proteomics biomarkers for solid tumors: Current status and future prospects. // *Mass Spectrom. Rev.* 2019. V. 38. № 1. P. 49–78.
16. Bernardo B.C., Charchar F.J., Lin R.C. et al. A microRNA guide for clinicians and basic scientists: background and experimental techniques // *Heart Lung. Circ.* 2012. V. 21. № 3. P. 131–142.
17. Berridge M.V., Dong L., Neuzil J. Mitochondrial DNA in tumor initiation, progression, and metastasis: role of horizontal mtDNA transfer // *Cancer Res.* 2015. V. 75. № 16. P. 3203–3208.
18. Bolha L., Ravnik-Glavač M., Glavač D. Circular RNAs: biogenesis, function, and a role as possible cancer biomarkers // *Int. J. Genomics*. 2017. V. 2017. P. 6218353.
19. Booth M.J., Branco M.R., Ficiz G. et al. Quantitative sequencing of 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine at single-base resolution // *Science*. 2012. V. 336. № 6083. P. 934–937.
20. Buonaguro F.M., Caposio P., Tornesello M.L. et al. Cancer diagnostic and predictive biomarkers 2018 // *Biomed. Res. Int.* 2019. V. 2019. P. 3879015.
21. Bussard K.M., Siracusa L.D. Understanding mitochondrial polymorphisms in cancer // *Cancer Res.* 2017. V. 77. № 22. P. 6051–6059.
22. Chan J.J., Tay Y. Noncoding RNA:RNA regulatory networks in cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 5. P. E1310.
23. Chandel N.S. Mitochondria as signaling organelles // *BMC Biol.* 2014. V. 12. P. 34.
24. Chatterjee A., Dasgupta S., Sidransky D. Mitochondrial subversion in cancer // *Cancer Prev. Res. (Phila)*. 2011. V. 4. № 5. P. 638–654.
25. Chen X.H., Huang S., Kerr D. Biomarkers in clinical medicine // *IARC Sci. Publ.* 2011. V. 163. P. 303–322.
26. Choudhury A.R., Singh K.K. Mitochondrial determinants of cancer health disparities // *Semin. Cancer Biol.* 2017. V. 47. P. 125–146.
27. Cordonnier M., Chanteloup G., Isambert N. et al. Exosomes in cancer theranostic: Diamonds in the rough // *Cell Adh. Migr.* 2017. V. 11. № 2. P. 151–163.
28. Cui M., Wang H., Yao X. et al. Circulating MicroRNAs in cancer: potential and challenge // *Front. Genet.* 2019. V. 10. P. 626.
29. Cui X., Wang J., Guo Z. et al. Emerging function and potential diagnostic value of circular RNAs in cancer // *Mol. Cancer*. 2018. V. 17. № 1. P. 123.
30. Cuzick J., Swanson G.P., Fisher G. Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study // *Lancet Oncol.* 2011. V. 12. № 3. P. 245–255.
31. Dahariya S., Paddibhatla I., Kumar S. et al. Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells // *Mol. Immunol.* 2019. V. 112. P. 82–92.
32. Dasgupta S., Shao C., Keane T.E. et al. Detection of mitochondrial deoxyribonucleic acid alterations in urine from urothelial cell carcinoma patients // *Int. J. Cancer*. 2012. V. 131. № 1. P. 158–164.
33. Dasgupta S., Soudry E., Mukhopadhyay N. et al. Mitochondrial DNA mutations in respiratory complex-I in never-smoker lung cancer patients contribute to lung cancer progression and associated with EGFR gene mutation // *J. Cell Physiol.* 2012. V. 227. № 6. P. 2451–2460.
34. Djebali S., Davis C.A., Merkel A. et al. Landscape of transcription in human cells // *Nature*. 2012. V. 489. № 7414. P. 101–8.
35. Dong Y., He D., Peng Z. et al. Circular RNAs in cancer: an emerging key player // *J. Hematol. Oncol.* 2017. V. 10. № 1. P. 2.
36. Dragomir M., Calin G.A. Circular RNAs in cancer – lessons learned from microRNAs // *Front. Oncol.* 2018. V. 8. P. 179.
37. Drake T.M., Søreide K. Cancer epigenetics in solid organ tumours: A primer for surgical oncologists // *Eur. J. Surg. Oncol.* 2019. V. 45. № 5. P. 736–746.
38. Duffy M.J. Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancer // *Med. Princ. Pract.* 2013. V. 22. № 1. P. 4–11.
39. Eger N., Schoppe L., Schuster S. et al. Circular RNA splicing // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018. V. 1087. P. 41–52.
40. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. // *Nat. Rev. Genet.* 2011. V. 12. № 12. P. 861–874.
41. Farge G., Falkenberg M. Organization of DNA in mammalian mitochondria // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 11. P. E2770.
42. Ferguson L.R., Chen H., Collins A.R. et al. Genomic instability in human cancer: Molecular insights and opportunities for therapeutic attack and prevention through diet and nutrition // *Semin. Cancer Biol.* 2015. V. 35. P. S5–S24.
43. Gammage P.A., Frezza C. Mitochondrial DNA: the overlooked oncogenome? // *BMC Biol.* 2019. V. 17. № 1. P. 53.
44. Gao S., Xu X., Wang Y. et al. Diagnostic utility of plasma lncRNA small nucleolar RNA host gene 1 in patients with hepatocellular carcinoma // *Mol. Med. Rep.* 2018. V. 18. № 3. P. 3305–3313.
45. Garzon R., Calin G.A., Croce C.M. MicroRNAs in cancer // *Annu. Rev. Med.* 2009. V. 60. P. 167–179.
46. Ge X., Wang Y., Nie J. et al. The diagnostic/prognostic potential and molecular functions of long non-coding RNAs in the exosomes derived from the bile of human cholangiocarcinoma // *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 41. P. 69995–70005.
47. Gebert L.F.R., MacRae I.J. Regulation of microRNA function in animals. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019. V. 20. № 1. P. 21–37.
48. Geisler S., Collier J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2013. V. 14. № 11. P. 699–712.

49. *González-Masiá J.A., García-Olmo D., García-Olmo D.C.* Circulating nucleic acids in plasma and serum (CNAPS): applications in oncology // *Onco Targets Ther.* 2013. V. 6. P. 819–832.
50. *Goossens N., Nakagawa S., Sun X. et al.* Cancer biomarker discovery and validation // *Transl. Cancer Res.* 2015. V. 4. № 3. P. 256–269.
51. *Guimaraes J.C., Zavolan M.* Patterns of ribosomal protein expression specify normal and malignant human cells // *Genome Biol.* 2016. V. 17. № 1. P. 236.
52. *Guo C.M., Liu S.Q., Sun M.Z.* miR-429 as biomarker for diagnosis, treatment and prognosis of cancers and its potential action mechanisms: A systematic literature review // *Neoplasma.* 2020. V.67. № 2. P. 215–228.
53. *Gustafsson C.M., Falkenberg M., Larsson N.G.* Maintenance and expression of mammalian mitochondrial DNA // *Annu. Rev. Biochem.* 2016. V. 85. P. 133–160.
54. *Han Y.N., Xia S.Q., Zhang Y.Y. et al.* Circular RNAs: A novel type of biomarker and genetic tools in cancer // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 38. P. 64551–64563.
55. *Henry N.L., Hayes D.F.* Cancer biomarkers // *Mol. Oncol.* 2012. V. 6. № 2. P. 140–146.
56. *Holdenrieder S., Pagliaro L., Morgenstern D. et al.* Clinically meaningful use of blood tumor markers in oncology // *Biomed. Res. Int.* 2016. V. 2016. P. 9795269.
57. *Hsiao K.Y., Lin Y.C., Gupta S.K. et al.* Noncoding effects of circular RNA CCDC66 promote colon cancer growth and metastasis // *Cancer Res.* 2017. V. 77. № 9. P. 2339–2350.
58. *Hsu C.C., Tseng L.M., Lee H.C.* Role of mitochondrial dysfunction in cancer progression. // *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2016. V. 241. № 12. P. 1281–1295.
59. *Isin M., Ozgur E., Cetin G. et al.* Investigation of circulating lncRNAs in B-cell neoplasms // *Clin. Chim. Acta.* 2014. V. 431. P. 255–9.
60. *Jarroux J., Morillon A., Pinskaya M.* History, discovery, and classification of lncRNAs // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. V. 1008. P. 1–46.
61. *Jones J.B., Song J.J., Hemen P.M. et al.* Detection of mitochondrial DNA mutations in pancreatic cancer offers a “mass”-ive advantage over detection of nuclear DNA mutations // *Cancer Res.* 2001. V. 61. № 4. P. 1299–1304.
62. *Joshi G., Kaur R., Kaur H.* Biomarkers in cancer. // *IRJPBS.* 2016. V. 3. № 3. P. 29–44.
63. *Ju Y.S., Alexandrov L.B., Gerstung M. et al.* Origins and functional consequences of somatic mitochondrial DNA mutations in human cancer. // *Elife.* 2014. V. 3. P. e029935.
64. *Kamel H.F.M., Al-Amodi H.S.A.B.* Exploitation of gene expression and cancer biomarkers in paving the path to era of personalized medicine // *Genomics. Proteomics. Bioinformatics.* 2017. V. 15. № 4. P. 220–235.
65. *Karley D., Gupta D., Tiwari A.* Biomarker for cancer: a great promise for future // *World. J. Oncol.* 2011. V. 2. № 4. P. 151–157.
66. *Kenny T.C., Germain D.* MtDNA, Metastasis, and the mitochondrial Unfolded Protein Response (UPRmt) // *Front Cell Dev. Biol.* 2017. V. 5. P. 37.
67. *Kirches E.* MtDNA as a cancer marker: a finally closed chapter? // *Curr. Genomics.* 2017. V. 18. № 3. P. 255–267.
68. *Kirwan A., Utratna M., O'Dwyer M.E. et al.* glycosylation-based serum biomarkers for cancer diagnostics and prognostics // *Biomed. Res Int.* 2015. V. 2015. P. 490531.
69. *Kloss-Brandstätter A., Schäfer G., Erhart G. et al.* Somatic mutations throughout the entire mitochondrial genome are associated with elevated PSA levels in prostate cancer patients // *Am. J. Hum. Genet.* 2010. V. 87. № 6. P. 802–812.
70. *Kumar K., Jain P., Sinha A. et al.* Clinical significance of tumour markers // *AJPCT.* 2014. V. 2. № 8. P. 1005–1015.
71. *Kun-Peng Z., Xiao-Long M., Chun-Lin Z.* Overexpressed circPVT1, a potential new circular RNA biomarker, contributes to doxorubicin and cisplatin resistance of osteosarcoma cells by regulating ABCB1 // *Int. J. Biol. Sci.* 2018. V. 14. № 3. P. 321–330.
72. *Larrea E., Sole C., Manterola L. et al.* New concepts in cancer biomarkers: circulating miRNAs in liquid biopsies // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17. № 5. P. E627.
73. *Lau C., Kim Y., Chia D. et al.* Role of pancreatic cancer-derived exosomes in salivary biomarker development // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. № 37. P. 26888–26897.
74. *Lee H.C., Yin P.H., Lin J.C. et al.* Mitochondrial genome instability and mtDNA depletion in human cancers // *Ann. N Y Acad. Sci.* 2005. V. 1042. P. 109–122.
75. *Lee S.R., Han J.* Mitochondrial nucleoid: shield and switch of the mitochondrial genome // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. V. 2017. P. 8060949.
76. *Leerapun A., Suravarapu S.V., Bida J.P. et al.* The utility of Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: evaluation in a United States referral population // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2007. V. 5. № 3. P. 394–402.
77. *Lei B., Tian Z., Fan W. et al.* Circular RNA: a novel biomarker and therapeutic target for human cancers // *Int. J. Med. Sci.* 2019. V. 16. № 2. P. 292–301.
78. *Li J., Sherman-Baust C.A., Tsai-Turton M. et al.* Claudin-containing exosomes in the peripheral circulation of women with ovarian cancer // *BMC Cancer.* 2009. V. 9. P. 244.
79. *Li J., Li H., Lv X. et al.* Diagnostic performance of circular RNAs in human cancers: A systematic review and meta-analysis // *Mol. Genet. Genomic. Med.* 2019. V. 7. № 7. P. e00749.
80. *Li J., Xuan Z., Liu C.* Long non-coding RNAs and complex human diseases // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 9. P. 18790–18808.
81. *Li W., Zhong C., Jiao J. et al.* Characterization of hsa\_circ\_0004277 as a new biomarker for acute myeloid leukemia via circular RNA profile and bioinformatics analysis // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 3. P. E597.
82. *Loomans-Kropp H.A., Umar A.* Cancer prevention and screening: the next step in the era of precision medicine // *NPJ Precis. Oncol.* 2019. V. 3. P. 3.
83. *Loud J.T., Murphy J.* Cancer screening and early detection in the 21st century // *Semin. Oncol. Nurs.* 2017. V. 33. № 2. P. 121–128.

84. *Lux S., Bullinger L.* Circular RNAs in cancer // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2018. V. 1087. P. 215–230.
85. *Ma Z., Shuai Y., Gao X. et al.* Circular RNAs in the tumour microenvironment // *Mol. Cancer.* 2020. V. 19. № 1. P. 8.
86. *Martinez-Ledesma E., Verhaak R.G., Treviño V.* Identification of a multi-cancer gene expression biomarker for cancer clinical outcomes using a network-based algorithm // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 11966.
87. *Maruvada P., Wang W., Wagner P.D. et al.* Biomarkers in molecular medicine: cancer detection and diagnosis // *Biotechniques.* 2005. V. 38. № 4S. P. 9–15.
88. *Melo S.A., Luecke L.B., Kahlert C. et al.* Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer // *Nature.* 2015. V. 523. № 7559. P. 177–182.
89. *Meng S., Zhou H., Feng Z. et al.* CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer // *Mol. Cancer.* 2017. V. 16. № 1. P. 94.
90. *Mercer T.R., Dinger M.E., Mattick J.S.* Long non-coding RNAs: insights into functions // *Nat. Rev. Genet.* 2009. V. 10. № 3. P. 155–159.
91. *Mercer T.R., Mattick J.S.* Structure and function of long noncoding RNAs in epigenetic regulation // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013. V. 20. № 3. P. 300–307.
92. *Mishra A., Verma M.* Cancer biomarkers: are we ready for the prime time? // *Cancers (Basel).* 2010. V. 2. № 1. P. 190–208.
93. *Nagano T., Fraser P.* No-nonsense functions for long noncoding RNAs // *Cell.* 2011. V. 145. № 2. P. 178–181.
94. *Ng W.L., Mohd Mohidin T.B., Shukla K.* Functional role of circular RNAs in cancer development and progression // *RNA Biol.* 2018. V. 15. № 8. P. 995–1005.
95. *Nicholls T.J., Minczuk M.* In D-loop: 40 years of mitochondrial 7S DNA // *Exp. Gerontol.* 2014. V. 56. P. 175–181.
96. *O'Day E., Lal A.* MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer // *Breast. Cancer. Res.* 2010. V. 12. № 2. P. 201.
97. *Otandault A., Anker P., Al Amir Dache Z. et al.* Recent advances in circulating nucleic acids in oncology // *Ann. Oncol.* 2019. V. 30. № 3. P. 374–384.
98. *Pardini B., Calin G.A.* MicroRNAs and long non-coding RNAs and their hormone-like activities in cancer // *Cancers (Basel).* 2019. V. 11. № 3. P. E378.
99. *Pardini B., Sabo A.A., Birolo G. et al.* Noncoding RNAs in extracellular fluids as cancer biomarkers: the new frontier of liquid biopsies // *Cancers (Basel).* 2019. V. 11. № 8. P. E1170.
100. *Patop I.L., Kadener S.* CircRNAs in cancer // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2018. V. 48. P. 121–127.
101. *Ponting C.P., Oliver P.L., Reik W.* Evolution and functions of long noncoding RNAs // *Cell.* 2009. V. 136. № 4. P. 629–641.
102. *Pös O., Biró O., Szemes T. et al.* Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications // *Eur. J. Hum. Genet.* 2018. V. 26. № 7. P. 937–945.
103. *Ragan C., Goodall G.J., Shirokikh N.E.* Insights into the biogenesis and potential functions of exonic circular RNA // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 2048.
104. *Role of Biomarkers in Medicine / Ed. by M. Wang, F.A. Witzmann.* IntechOpen, 2016. 260 p.
105. *Rong D., Sun H., Li Z. et al.* An emerging function of circRNA-miRNAs-mRNA axis in human diseases // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 42. P. 73271–73281.
106. *Saman S., Kim W., Raya M. et al.* Exosome-associated tau is secreted in tauopathy models and is selectively phosphorylated in cerebrospinal fluid in early Alzheimer disease // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 6. 3842–3849.
107. *Sanchez Calle A., Kawamura Y., Yamamoto Y. et al.* Emerging roles of long non-coding RNA in cancer // *Cancer Sci.* 2018. V. 109. № 7. P. 2093–2100.
108. *Santosh B., Varshney A., Yadava P.K.* Non-coding RNAs: biological functions and applications // *Cell Biochem. Funct.* 2015. V. 33. № 1. P. 14–22.
109. *Sarkar S., Horn G., Moulton K. et al.* Cancer development, progression, and therapy: an epigenetic overview // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 10. P. 21087–113.
110. *Schiffman J.D., Fisher P.G., Gibbs P.* Early detection of cancer: past, present, and future // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* 2015. P. 57–65.
111. *Sethi S., Ali S., Philip P.A. et al.* Clinical advances in molecular biomarkers for cancer diagnosis and therapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. V. 14. № 7. P. 14771–84.
112. *Shang Q., Yang Z., Jia R. et al.* The novel roles of circRNAs in human cancer // *Mol. Cancer.* 2019. V. 18. № 1. P. 6.
113. *Shao Y., Ye M., Jiang X. et al.* Gastric juice long non-coding RNA used as a tumor marker for screening gastric cancer // *Cancer.* 2014. V. 120. № 21. P. 3320–3328.
114. *Sharma N., Pasala M.S., Prakash A.* Mitochondrial DNA: Epigenetics and environment // *Environ. Mol. Mutagen.* 2019. V. 60. № 8. P. 668–682.
115. *Shen B., Wang Z., Li Z. et al.* Circular RNAs: an emerging landscape in tumor metastasis // *Am. J. Cancer. Res.* 2019. V. 9. № 4. P. 630–643.
116. *Stewart J.B., Alaei-Mahabadi B., Sabarinathan R. et al.* Simultaneous DNA and RNA mapping of somatic mitochondrial mutations across diverse human cancers // *PLoS Genet.* 2015. V. 11. № 6. e1005333.
117. *Su M., Xiao Y., Ma J. et al.* Circular RNAs in Cancer: emerging functions in hallmarks, stemness, resistance and roles as potential biomarkers // *Mol. Cancer.* 2019. V. 18. № 1. 90.
118. *Su Y., Zhong G., Jiang N. et al.* Circular RNA, a novel marker for cancer determination (Review) // *Int. J. Mol. Med.* 2018. V. 42. № 4. P. 1786–1798.
119. *Suraj S., Dhar C., Srivastava S.* Circulating nucleic acids: An analysis of their occurrence in malignancies. // *Biomed. Rep.* 2017. V. 6. № 1. P. 8–14.
120. *Tang H., Wu Z., Zhang J. et al.* Salivary lncRNA as a potential marker for oral squamous cell carcinoma diagnosis // *Mol. Med. Rep.* 2013. V. 7. № 3. P. 761–766.
121. *Tang Q., Ni Z., Cheng Z. et al.* Three circulating long non-coding RNAs act as biomarkers for predicting NSCLC. // *Cell Physiol. Biochem.* 2015. V. 37. № 3. P. 1002–1009.
122. *Taylor D.D., Gercel-Taylor C.* MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* 2008. V. 110. № 1. P. 13–21.

123. *Thierry A.R., El Messaoudi S., Gahan P.B. et al.* Origins, structures, and functions of circulating DNA in oncology // *Cancer Metastasis. Rev.* 2016. V. 35. № 3. P. 347–376.
124. *Thind A., Wilson C.* Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets // *J. Extracell. Vesicles.* 2016. V. 5. P. 31292.
125. *Trzybulska D., Vergadi E., Tsatsanis C.* miRNA and other non-coding RNAs as promising diagnostic markers // *EJIFCC.* 2018. V. 29. № 3. P. 221–226.
126. *Umelo I.A., Costanza B., Castronovo V.* Innovative methods for biomarker discovery in the evaluation and development of cancer precision therapies // *Cancer Metastasis Rev.* 2018. V. 37. № 1. P. 125–145.
127. *Vaidyanathan K., Vasudevan D.M.* Organ specific tumor markers: what's new? // *Indian. J. Clin. Biochem.* 2012. V. 27. № 2. P. 110–120.
128. *Van Gisbergen M.W., Voets A.M., Starmans M.H. et al.* How do changes in the mtDNA and mitochondrial dysfunction influence cancer and cancer therapy? Challenges, opportunities and models // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2015. V. 764. P. 16–30.
129. *Velpula N., Yathavakilla C.N., Ramesh A.* Tumor markers- a review // *Int. J. Oral. Health. Dent.* 2017. V. 3. № 1. P. 1–5.
130. *Verschoor M.L., Ungard R., Harbottle A. et al.* Mitochondria and cancer: past, present, and future // *Biomed. Res. Int.* 2013. V. 2013. P. 612369.
131. *Vo J.N., Cieslik M., Zhang Y. et al.* The landscape of circular RNA in cancer // *Cell.* 2019. V. 176. № 4. P. 869–881.
132. *Volobueva A.S., Melnichenko A.A., Grechko A.V. et al.* Mitochondrial genome variability: the effect on cellular functional activity // *Ther. Clin. Risk Manag.* 2018. V. 14. P. 237–245.
133. *Wang H., Zhou R., Sun L. et al.* TOP1MT deficiency promotes GC invasion and migration via the enhancements of LDHA expression and aerobic glycolysis // *Endocr. Relat. Cancer.* 2017. V. 24. № 11. P. 565–578.
134. *Wang W., Wang J., Zhang X. et al.* Serum circSETDB1 is a promising biomarker for predicting response to platinum-taxane-combined chemotherapy and relapse in high-grade serous ovarian cancer // *Oncotargets. Ther.* 2019. V. 12. P. 7451–7457.
135. *Wang X., Song X., Glass C.K. et al.* The long arm of long noncoding RNAs: roles as sensors regulating gene transcriptional programs // *Cold Spring. Harb. Perspect Biol.* 2011. V. 3. № 1. P. a003756.
136. *Wang Y., Mo Y., Gong Z. et al.* Circular RNAs in human cancer // *Mol. Cancer.* 2017. V. 16. № 1. P. 25.
137. *Weber J.A., Baxter D.H., Zhang S. et al.* The microRNA spectrum in 12 body fluids // *Clin. Chem.* 2010. V. 56. № 11. P. 1733–1741.
138. *Wu Q., Li P., Wu M. et al.* Dereglulation of circular RNAs in cancer from the perspectives of aberrant biogenesis, transport and removal // *Front. Genet.* 2019. V. 10. P. 16.
139. *Xi X., Li T., Huang Y. et al.* RNA Biomarkers: frontier of precision medicine for cancer // *Noncoding RNA.* 2017. V. 3. № 1. P. E9.
140. *Yoshioka Y., Kosaka N., Konishi Y. et al.* Ultra-sensitive liquid biopsy of circulating extracellular vesicles using ExoScreen // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 3591.
141. *Yuan R.T., Sun Y., Bu L.X. et al.* Gene mutations in the D-loop region of mitochondrial DNA in oral squamous cell carcinoma // *Mol. Med. Rep.* 2015. V. 11. № 6. P. 4496–4500.
142. *Yuan Y., Ju Y.S., Kim Y. et al.* Comprehensive molecular characterization of mitochondrial genomes in human cancers // *Nat. Genet.* 2020. V. 52. № 3. P. 342–352.
143. *Zhang S., Du L., Wang L. et al.* Evaluation of serum exosomal lncRNA-based biomarker panel for diagnosis and recurrence prediction of bladder cancer // *J. Cell Mol. Med.* 2019. V. 23. № 2. P. 1396–1405.
144. *Zhao X., Cai Y., Xu J.* Circular RNAs: biogenesis, mechanism, and function in human cancers // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. № 16. P. E3926.
145. *Zheng Z.K., Pang C., Yang Y. et al.* Serum long non-coding RNA urothelial carcinoma-associated 1: a novel biomarker for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma // *J. Int. Med. Res.* 2018. V. 46. № 1. P. 348–356.
146. *Zhu X., Wang X., Wei S. et al.* Hsa\_circ\_0013958: a circular RNA and potential novel biomarker for lung adenocarcinoma // *FEBS J.* 2017. V. 284. № 14. P. 2170–2182.

## Biomarkers of Malignant Neoplasms

**A. F. Poveshchenko<sup>a</sup>, V. I. Konenkov<sup>a</sup>, A. Yu. Letyagin<sup>a</sup>, and G. A. Shkurat<sup>a</sup>, \***

<sup>a</sup>*Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630117 Russia*

\* e-mail: gashkurat2016@yandex.ru

**Abstract**—Biomolecules which produced by cells of tumor or by other cells of body in response to the tumor, are used in clinical practice as cancer biomarkers. These include proteins, DNA and RNA, and also other types of biomolecules. In present review are analyzed contemporary data about protein, DNA and RNA biomarkers of different malignant neoplasms.

*Keywords:* biomarkers, cancer