

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 53, номер 1, 2022

---

---

Пуринергическая регуляция защитных реакций при инфекции <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Н. Б. Серебряная, М. Камран Сарканди</i>	3
Сиртуины и старение <i>А. Э. Пухальская, И. М. Кветной, Н. С. Линькова, А. С. Дятлова, Е. О. Гупон, К. Л. Козлов, М. А. Пальцев</i>	16
Биологические эффекты воздействия ослабленного магнитного поля Земли <i>Б. Ф. Щеголев, С. В. Сурма, В. Е. Стефанов, М. Б. Павлова, Н. В. Ширяева, Т. Г. Зачепило, Н. Г. Лопатина</i>	28
Динамика паттернов электрической активности мозга при дезадаптационных нарушениях <i>О. Е. Дик</i>	34
ГАМК Б торможение через обратные связи участвует в синхронизации интериктальных спайков в коре <i>В. Г. Марченко, М. И. Зайченко</i>	52
Принципы регуляции стационарно функционирующих систем метаболизма <i>Ф. И. Атауллаханов, М. В. Мартынов, С. В. Комарова, В. М. Витвицкий</i>	76
Роль NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена и развитии сахарного диабета <i>Д. В. Куркин, Е. Е. Абросимова, Д. А. Бакулин, Н. С. Ковалев, М. А. Дубровина, А. В. Борисов, В. И. Петров, И. Н. Тюренков</i>	88

---

---

# Contents

---

---

**Vol. 53, No. 1, 2022**

---

---

Purinergetic Regulation of Defense Reactions Against Mycobacterium Tuberculosis <i>N. B. Serebryanaya and M. Kamran Sarkandi</i>	3
Sirtuins and Aging <i>A. E. Pukhalskaia, I. M. Kvetnoy, N. S. Linkova, A. S. Diatlova, E. O. Gutop, K. L. Kozlov, and M. A. Paltsev</i>	16
Biological Effects of Weakened Geomagnetic Field's Impact <i>B. F. Shchegolev, S. V. Surma, V. E. Stefanov, M. B. Pavlova, N. V. Shiryayeva, T. G. Zachepilo, and N. G. Lopatina</i>	28
Dynamics of Patterns of Electric Brain Activity for Deadaptation Disorders <i>O. E. Dick</i>	34
GABA B Inhibition Through Feedback is Involved in the Synchronization of Interictal Spikes in the Cortex <i>V. G. Marchenko and M. I. Zaichenko</i>	52
Principles of Regulation of Stationary Functioning Metabolic Systems <i>F. I. Ataullakhanov, M. V. Martinov, S. V. Komarova, and V. M. Vitvitsky</i>	76
The Role of the NO-Ergic System in the Regulation of Carbohydrate Metabolism and the Development of Diabetes Mellitus <i>D. V. Kurkin, E. E. Abrosimova, D. A. Bakulin, N. S. Kovalev, M. A. Dubrovina, A. V. Borisov, V. I. Petrov, and I. N. Tyurenkov</i>	88

---

---

УДК 616-092.19

## ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ИНФЕКЦИИ *Mycobacterium tuberculosis*

© 2022 г. Н. Б. Серебряная<sup>a, b, \*</sup>, М. Камран Сарканди<sup>a</sup>

<sup>a</sup>ФГБНУ Институт экспериментальной медицины Минобрнауки РФ, Санкт-Петербург, 197376 Россия

<sup>b</sup>ФБГОУВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

\*e-mail: nbvma@mail.ru

Поступила в редакцию 25.05.2021 г.

После доработки 20.08.2021 г.

Принята к публикации 28.08.2021 г.

Туберкулез, инфекционный процесс, вызванный *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), является основной причиной смерти от инфекционных заболеваний в мире. Вирулентные *Mtb* приспособились к выживанию в макрофагах хозяина за счет использования различных стратегий уклонения от иммунного ответа. Цель настоящего исследования – определить компоненты пуринергического метаболизма, которые *Mtb* использует как факторы вирулентности. При проведении работы проанализированы публикации в PubMed, Wiley Online Library, Google Scholar, Elsevier, eLIBRARY за 1972–2020 гг. Пуринергический сигнальный путь инициируется внеклеточными пуриновыми нуклеотидами (eATФ и др.), высвобождаемыми при повреждении клеток. Высокие концентрации АТФ вызывают активацию рецепторов P2X7 на *Mtb*-инфицированных макрофагах и способствуют уничтожению патогена. При хронической *Mtb*-инфекции общая генерация АТФ снижена, но вирулентные *Mtb* могут значительно увеличивать соотношения АТФ/АДФ. Белки, секретлируемые вирулентным *Mtb*, могут стимулировать апоптоз макрофагов. *Mtb* способны противодействовать бактерицидности макрофагов, продуцируя каталазу-пероксидазу, которая деактивирует реактивные радикалы кислорода и азота. Приток нейтрофилов создает воспалительное микроокружение, которое способствует выживанию *Mtb*, благоприятствует их росту и репликации. При туберкулезе легких нейтрофилы в основном участвуют в иммунопосредованном повреждении ткани. Эти фагоциты привлекаются в очаг воспаления молекулами АТФ, а затем ферменты нейтрофилов CD39 и CD73 могут преобразовывать АТФ в АМФ и аденозин, который обеспечивает местную иммуносупрессию. Для поддержания необходимого уровня АТФ и выживания при переходе в фазу покоя в *Mtb* активируется АТФ-синтаза. Ферменты нуклеозиддифосфаткиназы (NDPK) *Mtb* продуцирует нуклеозидтрифосфаты для синтеза РНК, ДНК и полисахаридов. Для эффективного лечения туберкулеза необходимо противодействовать бактериальной вирулентности, что невозможно без нормализации пуринового метаболизма организма хозяина и восстановления пуринергических сигналов.

**Ключевые слова:** *Mycobacterium tuberculosis*, туберкулез, пуринергическая регуляция, специфическое воспаление, иммунный ответ, P2X7

**DOI:** 10.31857/S030117982104007X

### ВВЕДЕНИЕ

*Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), возбудитель туберкулеза (ТБ), широко распространенного за-

болевания в развивающихся странах, по-прежнему является серьезной проблемой для здравоохранения во всем мире [18]. Согласно отчету Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2019 г. 10 млн человек в мире болеют туберкулезом и 1.4 миллиона человек умерли от этой инфекции [115]. Туберкулез легких – хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся образованием гранулем в ткани легких и выраженной воспалительной реакцией [56]. Существенной особенностью патогенеза ТБ как хронической инфекции является выживание бактерий в макрофагах инфицированного хозяина.

В последние годы определена роль пуринергической системы в регуляции функциональной активности клеток различных органов и тканей. Составляющими пуринергической системы являются

**Сокращения:** АДО – аденозин, ADA – аденозиндеаминаза, Sx43 – коннексиновые полуканалы 43, eNOS – эндотелиальная синтаза окиси азота, E-NTPDase – эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаза, IFN $\gamma$  – интерферон  $\gamma$ , IL – интерлейкин, iNOS – индуцибельная синтаза окиси азота, *Mtb* – микобактерии туберкулеза, NAD<sup>+</sup> – никотинамидадениндинуклеотид, NDPK – нуклеозид-дифосфат киназа, NO – оксид азота, O<sup>2-</sup> – супероксид-радикал, Rapx-1 – каналы паннексина-1, R – рецептор, Th – Т-хелпер, TNF $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$ , АДФ – аденозиндифосфат, АДК – аденозинкиназа, АМФ – аденозинмонофосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, БЦЖ – бациллы Кальметта–Герена, eATФ – внеклеточный АТФ, МПК – мононуклеары периферической крови, ПН – пероксинитрит, РРА – реактивные радикалы азота, РРК – реактивные радикалы кислорода, ТБ – туберкулез, цАДФР – гидролаза циклической АДФ-рибозы, ЩФ – щелочная фосфатаза.

сигнальные молекулы, образующихся при метаболизме пуринов (от АТФ через АДФ и АМФ до аденозина, лишённого фосфатных групп), пуринергические рецепторы (типы P1 и P2), а также ферменты-нуклеотидазы, необходимые для образования этих медиаторов. Показано, что нуклеотиды и аденозин регулируют выраженность, продолжительность и исход воспалительного ответа при активации специфических рецепторов, широко представленных на иммунных клетках [15, 62, 63].

Однако при туберкулезе легких регуляторная пуринергическая система остается малоизученной. Цель этого обзора – рассмотреть изученные механизмы, участвующие в пуринергической регуляции, которые *Mtb* использует для ускользания от иммунного ответа. Для этого были проанализированы публикации в PubMed, Wiley Online Library, Google Scholar, Elsevier, eLIBRARY за 1972–2020 годы, посвященные данному вопросу (ключевые слова: *Mycobacterium tuberculosis*, *Tuberculosis*, *purinergic signaling pathway*, *inflammation*, *P2X7*, *secretion systems of Mtb*, *macrophage apoptosis*, *mitochondria*, *purinergic pathway enzymes*, *immune responses to Mtb*).

#### ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ВОСПАЛЕНИЯ И ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ

Впервые концепцию пуринергического сигнального пути сформулировал Джеффри Бернсток в 1972 г. [9, 26]. Первые связанный с G-белком рецепторы для аденозинтрифосфата (АТФ), рецепторы P2Y1 и P2Y2, были клонированы в 1970-х годах Бернстоком и Джулиусом. Вскоре гипотеза Бернстока о пуринергической передаче сигналов стала одной из самых горячих тем в нейрофизиологии и нейрофармакологии. В начале 1990-х годов несколько важных открытий окончательно подтвердили правильность концепции пуринергической регуляции [43, 45]. Однако до сих пор этот путь недостаточно учитывается при описании патогенеза различных заболеваний и состояний.

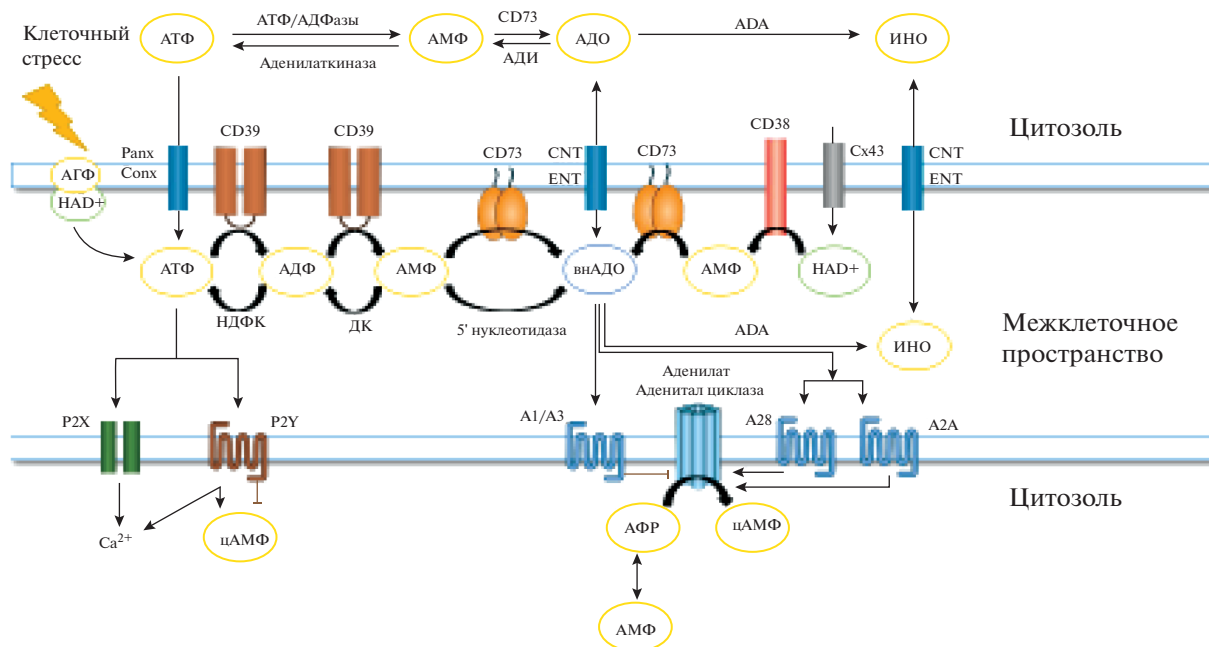
В физиологических условиях, при стрессе и повреждении все типы клеток организма секретируют нуклеозиды и нуклеотиды. Взаимодействуя со своими рецепторами, эти медиаторы-аутоагонисты (АТФ, аденозин) становятся стимуляторами процессов нейромодуляции и нейротрансмиссии, секреции гормонов, взаимодействия глии и нейронов, тромбоцитов и эндотелия, они регулируют активности клеток почки, сердечно-сосудистой, иммунной системы, желудочно-кишечного тракта, воспаления, способны регулировать боль и рост злокачественных клеток [18, 23, 27, 28, 39, 40, 55, 65, 110]. Уровни внеклеточных нуклеотидов и нуклеозидов могут динамически контролироваться группой ферментов, называемых эктонуклеотидазами. Эти ферменты включают семейство эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролаз (E-NTP-

Dase) (E-NTPDase1, эктоапиразу CD39), которые гидролизуют три- и дифосфаты нуклеотидов, и экто-5'-нуклеотидазу (CD73), которая гидролизует монофосфаты нуклеотидов до аденозина [123]. Завершает каскад гидролиза нуклеозидов аденозиндезаминаза (ADA), фермент, ответственный за превращение аденозина в инозин [17, 51, 124]. ADA представлена двумя изоферментами, ADA1 и ADA2, проявляющими активность в различных компартментах [121]. Для пуринергических медиаторов имеются несколько типов рецепторов на поверхности различных клеток, включая рецепторы P1 для аденозина и P2 для АТФ, АДФ и некоторых других нуклеотидов (рис. 1). Передача пуринергических сигналов через P2R и P1R часто обеспечивает противоположные эффекты с точки зрения модуляции функций иммунных клеток [13]. В частности, АТФ-опосредованная передача сигналов через P2 рецепторы в основном способствует активации иммунных клеток, тогда как АДО-опосредованная передача сигналов P1R в основном ограничивает активацию иммунных клеток [28].

Рецепторы P2 классифицируют как ионотропные (P2X) и метаботропные (P2Y) рецепторы [120]. Среди аденозиновых рецепторов P1 существует четыре различных подтипа рецепторов, A1, A2A, A2B и A3, различающихся по аффинности и характеру взаимодействия с аденилатциклазой (стимуляция или ингибция) [75, 101, 108].

Взаимодействуя с P1-рецепторами, различные (милли- и микромолярные) концентрации аденозина могут положительно и/или отрицательно регулировать процессы в клетках различных тканей [25]. При воздействии на клетки иммунной системы аденозин может стимулировать продукцию некоторых медиаторов или ингибировать активность иммунных клеток, модулировать воспаление и снижать активность противоопухолевых иммунных реакций [106].

Важнейшим пуринергическим медиатором является АТФ. В легких АТФ увеличивает секрецию муцина из бокаловидных клеток бронхов и активирует высвобождение хлора (Cl<sup>-</sup>) из эпителиальных клеток в верхних дыхательных путях [34, 71, 81]. Кроме того, АТФ является эффективным агонистом для стимуляции высвобождения сурфактанта из альвеолярных пневмоцитов 2 типа [114]. Было показано, что обработка АТФ праймирует альвеолярные макрофаги крысы к усилению высвобождения супероксида при их стимуляции иммунными комплексами [60]. Обработка макрофагов АТФ может стимулировать уничтожение вакцинного штамма микобактерий *Bacillus Calmette-Guérin* (БЦЖ). При этом АТФ может придавать бактерицидную активность штамму БЦЖ по отношению к вирулентным микобактериям [35, 74]. То есть, АТФ изменяет свойства не только иммунных клеток, но и микроорганизмов.



**Рис. 1.** Пурины в клеточных сигнальных и метаболических сетях. На рисунке изображены две клетки, которые обмениваются данными, используя пурины в качестве сигнальных молекул. Высвобожденный АТФ распознается двумя типами рецепторов (P2X, ионотропными, и P2Y, метаболотропными). АТФ может гидролизываться различными эктонуклеотидазами (такими как CD39 и CD73) для трансформации в менее фосфорилированные нуклеотиды (АДФ и АМФ) и, в конечном итоге, в нуклеозид-аденозин (АДО). Все рецепторы, опосредующие действия АДО, являются метаболотропными. Таким образом, передача пуринергических сигналов является результатом взаимодействия типов рецепторов, присутствующих на клетках, с адениновыми нуклеотидами и АДО в переменной пропорции, которая зависит от ферментативной активности экспрессируемых эктонуклеотидаз. На клетках представлены мембранные транспортеры, способные переносить АДО внутрь клетки. Внутри клетки АДО может трансформироваться во множество метаболитов и действовать как модулятор стратегических метаболических путей. АДО катаболизируется аденозиндеаминой (АДА), в результате чего образуется инозитол и далее – набор пуринов, конечным метаболитом является мочевая кислота (мягкий антиоксидант) и ксантин в качестве промежуточного звена, способный генерировать супероксид анион ( $\text{O}_2^-$ ). Под действием аденозинкиназы (АДК) АДО может превращаться в нуклеотид (АМФ), который является модулятором АМФ-киназы (АМФК), важного фермента, регулирующего энергетический гомеостаз. АМФ можно дополнительно фосфорилировать до АДФ и АТФ. АТФ попадает во внеклеточное пространство посредством экзоцитоза или через специализированные каналы (полуканалы паннексина и коннексина), где выполняет роль медиатора.

Примечательно, что патогенные микроорганизмы, включая бактерии и грибы, могут выделять внеклеточный АТФ [83], однако их роль в обеспечении пуринергической передачи сигналов в макроорганизме хозяина не выяснена.

### ОСОБЕННОСТИ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ВОСПАЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ *Mtb* ИНФЕКЦИИ

Способность *Mtb* устанавливать хроническую инфекцию и их вирулентность связана со способностью выживать и сохраняться в альвеолярных макрофагах после захвата в процессе фагоцитоза. Для установления и поддержания продуктивной инфекции *Mtb* необходима начальная фаза роста в макрофагах [72]. Макрофаги, инфицированные *Mtb*, имеют высокий уровень внутриклеточного кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Повышение уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в основном вызвано активацией рецепторов P2Y2 и P2Y7 на поверхности макрофагов под действием АТФ

[22]. При повышении уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в клетке повышается активность фосфолипазы D, что способствует АТФ-индуцированному слианию фagosом с лизосомами и противодействует стратегии выживания *Mtb* [42].

При фагоцитозе *Mtb* в фagosомах происходит сборка ферментного комплекса NADPH-оксидазы, что способствует образованию реактивных радикалов кислорода (РРК) [105]. Однако, для уничтожения *Mtb* макрофагами необходимы дополнительно реактивные радикалы азота (РРА), такие как оксид азота (NO), поскольку именно они обладают микробицидным действием по отношению к внутриклеточным патогенам. В моноциты/макрофагах NO генерируется в кислой среде фagosом в результате окисления L-аргинаина с участием фермента индуцибельной синтазы окиси азота (iNOS). Для индукции активности iNOS требуется активация моноцитов/макрофагов цитокинами клеток Th1, такими как фактор

некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерферон  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [48, 58] и другими [57]. Оксид азота в свою очередь способен модулировать иммунный ответ. Показано, что NO регулирует процессы дифференцировки Т-хелперов (Th), обеспечивая поляризацию иммунного ответа в направлении Th1 посредством индукции синтеза интерлейкина-12 (IL-12) моноцитами [7]. Кроме того, NO может напрямую ингибировать воспаление [84, 104], защищать Т-лимфоциты от апоптоза, опосредованного *Mtb* [111] и подавлять вызванную воспалением активность 12/15-липоксигеназы, обеспечивающую привлечение нейтрофилов [85].

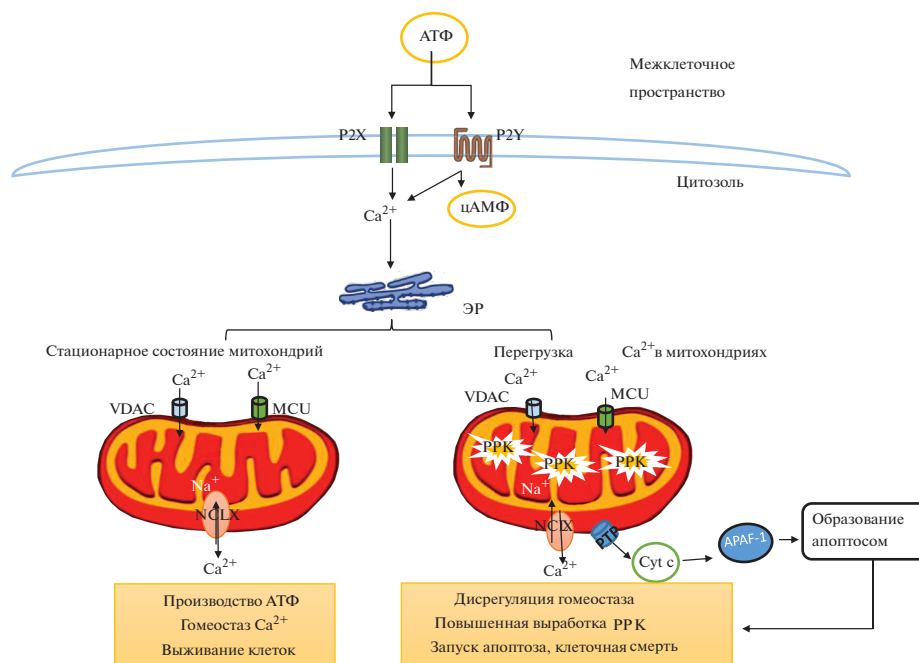
Собственные клетки организма защищены от реактивных радикалов кислорода и азота механизмами, известными как система антиоксидантной защиты [36]. Однако в условиях гипергенерации NO может проявляться токсический эффект, связанный как с прямым окислением железосодержащих групп клеточных ферментов, так и с образованием сильного окислителя, очень реакционного и токсичного пероксинитрита (ПН). Пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>) образуется при взаимодействии NO с супероксидным анион-радикалом (O<sup>2-</sup>). Токсический эффект NO и ПН проявляется, прежде всего, в ингибировании митохондриальных ферментов, что приводит к дисфункции митохондрий, снижению продукции АТФ [50, 88] и может вызывать апоптоз и некроз как самих клеток-продуцентов NO, так и окружающих клеток [24].

*Mtb* способны избегать разрушения внутри макрофагов, успешно выживая в течение длительного времени как внутри клеток, так и внутри гранулем [21]. Некоторые из стратегий, которые *Mtb* использует для выживания в макрофагах и ускользания от иммунного ответа, включают предотвращение слияния фагосом с лизосомами и ограничение закисления фагосом [37, 107]. *Mtb* могут ускользать из фагосом, перемещаясь в цитозоль. Распознавание *Mtb* цитоплазматическими сенсорами может приводить к аутофагии, однако *Mtb* могут противодействовать элиминации, опосредованной аутофагосомами, высвобождая факторы вирулентности через специализированные системы секреции [99, 126]. Важнейшим фактором вирулентности *Mtb* являются антиоксидантные ферменты метионин-сульфоксид-редуктазы А и В, которые защищают бактерии от NO и пероксинитрита (ONOO<sup>-</sup>) [76]. Показано, что блокирование продукции NO приводит к увеличению популяции бактерий в легких мышей, инфицированных *Mtb*. При недостаточной активности iNOS и дефиците цитокина IFN- $\gamma$  или его рецептора (IFN $\gamma$ R), развиваются тяжелые формы туберкулеза, характеризующимся высокой бактериальной нагрузкой и гранулоцитарным воспалением [85].

Традиционно основным источником NO при воспалении считаются макрофаги [31], однако нейтрофилы, активные участники воспаления при ТБ, также могут продуцировать NO [102]. В нейтрофилах присутствует конститутивная изоформа синтазы NO, подобная таковой в эндотелиальных клетках (eNOS), а в условиях воспаления нейтрофилы экспрессируют также и вторую, индуцибельную изоформу NO-синтазы (iNOS) [87, 89]. Конститутивная активность eNOS обеспечивает генерацию небольших количества NO в течение коротких периодов времени, в то время как активация iNOS приводит к замедленному, но длительному высвобождению больших количеств NO [30, 38]. Таким образом, в отличие от активированных макрофагов, нейтрофилы не производят значительных количеств NO и обладают очень ограниченной способностью ограничивать репликацию *Mtb* [85]. Показано, что у мышей с дефицитом iNOS приток нейтрофилов создает хорошие условия для роста *Mtb* и способствует репликации бактерий [84].

Привлеченные в очаг микобактериального воспаления нейтрофилы быстро подвергаются апоптозу и становятся основным источником аденозина, который выделяется через коннексиновые полуканалы 43 (Cx43) или каналы паннексина-1 (panx-1) [14, 113]. Нейтрофилы, экспрессирующие апиразу CD39, при взаимодействии с клетками, экспрессирующими экто-5'-нуклеотидазу (CD73), могут участвовать в производстве аденозина, а при связывании фермента ADA2, могут также контролировать активность клеток в аденозиновой среде [69]. Интересно, что при повышении концентрации внеклеточного аденозина реализуются механизмы отрицательной обратной связи и привлечение нейтрофилов в очаг воспаления в легких ингибируется [96]. Таким образом, регуляция активности нейтрофилов в очаге микробного воспаления существенно контролируется пуринергической системой: их привлечение связано с рецепторами P2Y, а полная активация с рецептором P2X7 [113], дальнейшая модуляция обеспечивается различными концентрациями аденозина при его взаимодействии с различными рецепторами семейства P1.

В присутствии NO (при нитрозативном стрессе) в моноцитах/макрофагах наблюдается возрастание активности и выделение из клеток изоформы 2 фермента аденозиндезаминазы (ADA2). При поступлении в плазму крови ADA2 закрепляется на поверхности нейтрофилов, что способствует высвобождению из них реактивных радикалов кислорода. ADA2 снижает уровень аденозина и уменьшает его доступность, но возможность его связывания с высоко аффинным ингибирующим аденилатциклазу рецептором A1 на нейтрофилах сохраняется, что поддерживает высокую продукцию РРК [70]. Однако в том случае, если аденозин



**Рис. 2.** Пуринергическая регуляция функций митохондрий и индукция апоптоза инфицированных макрофагов при инфекции *Mtb*. Для производства АТФ и обеспечения метаболических потребностей клетки митохондрии используют Ca<sup>2+</sup>. Ионизированный кальций проникает в митохондрии в основном через два кальциевых канала VDAC (на внешней митохондриальной мембране) и MCU (на внутренней митохондриальной мембране). Для поддержания клеточного гомеостаза Ca<sup>2+</sup> удаляется из митохондрий с помощью ионообменника (exchanger) NCLX. Однако, если Ca<sup>2+</sup> накапливается в митохондриях, открывается переходная пора проницаемости (PTP), внешняя мембрана деполяризуется и высвобождается цитохром с. После выхода из митохондрий цитохром с связывается с апоптотическим фактором активации пептидазы 1 (APAF-1), что приводит к образованию апоптосомы. Апоптосома активирует прокаспазу-9, а затем каспазу-3, что в конечном итоге приводит к гибели клетки. Перегрузка Ca<sup>2+</sup> может также увеличить производство РРК за счет транспорта электронов, что в конечном итоге приводит к повреждению ДНК и гибели клеток.

связывается с активирующим аденилатциклазу рецептором A2A, образование РРК нейтрофилами снижается [53]. Таким образом, функциональное состояние нейтрофилов связано с типом экспрессируемых рецепторов и существенно влияет на модуляцию, осуществляемую аденозином.

У больных туберкулезом легких отмечают существенные нарушения продукции оксида азота мононуклеарными клетками периферической крови (МПК), причем наиболее выраженным это угнетение становится на фоне антибактериальной терапии [7]. Снижение продукции NO МПК при ТБ, как полагают, является одним из ключевых факторов патогенеза заболевания [4]. Однако некоторые данные, напротив, указывают на то, что спонтанная и стимулированная генерация NO в МПК при активном туберкулезе может становиться чрезмерной, что способствует индукции апоптоза Т-лимфоцитов и развитию специфической анергии [5].

### РОЛЬ РЕЦЕПТОРА P2X7 В АКТИВАЦИИ ИММУННЫХ КЛЕТОК ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗЕ

В экспериментах *in vitro* было показано, что высокие концентрации внеклеточного (e)АТФ

(~1 мМ) вызывают уничтожение микобактерий моноцитами человека, а при концентрации eАТФ 3 мМ и активации АТФ-специфического рецептора P2X7 (P2X7R) в течение 30 мин запускался апоптоз макрофагов, инфицированных БЦЖ, причем механизм киллинга бактерий не зависел от РРК/РРА [74]. Дальнейшие исследования показали, что механизм уничтожения микобактерий зависит либо от активации фосфолипазы D [46, 73], либо от апоптоза инфицированных макрофагов (рис. 2) [74, 86].

Исследование показало, что мыши с дефицитом рецептора P2X7 (P2X7<sup>-/-</sup>), инфицированные *Mtb*, имели более низкую бактериальную нагрузку по сравнению с мышами дикого типа, а в их легких отмечена умеренная инфильтрация мононуклеарными лейкоцитами без видимых признаков некроза, причем выживание таких животных было более длительным [11, 20]. Инфицированные *Mtb* макрофаги в присутствии низких концентраций АТФ выделяют меньше провоспалительных цитокинов. Установленный уровень АТФ, в зависимости от скорости его деградации, может ограничивать повреждение тканей, однако может также способствовать ускользанию *Mtb* от иммунного ответа [90]. У мышей с дефицитом

P2X7R восприимчивость к туберкулезной инфекции критически зависит от дозы микобактерий и используемых штаммов. Гипервирулентные микобактерии вызывают некроз макрофагов по P2X7R-зависимому механизму [11]. Участие P2X7R в развитии тяжелых форм туберкулеза может быть объяснено порочным кругом, вызванным высвобождением высоких концентраций АТФ из некротических клеток, что приводит к повреждению легких и распространению бактерий.

С использованием экспериментальных моделей было выявлено участие рецептора P2X7 в различных процессах при туберкулезе. Так, макрофаги, полученные от людей с полиморфизмом 1513A → C в гене P2X7R и инфицированные *Mtb*, не подвергались апоптозу и не вызывали гибели микобактерий при обработке АТФ [47]. Placido et al. показали, что eАТФ вызывает апоптоз в моноцитах/макрофагах, инфицированных *Mtb* через P2X7R, и снижает жизнеспособность бактерий [91]. Иммуномодулирующий эффект внеклеточного АТФ был также описан через активацию P2X7R, которая увеличивает экспрессию МНС II в макрофагах, инфицированных *Mycobacterium bovis* (БЦЖ) или *Mtb*, и способствует возникновению антимикробного Т-клеточного ответа [93].

#### МЕХАНИЗМЫ УСКОЛЬЗАНИЯ *Mtb* ОТ ГИБЕЛИ В МАКРОФАГАХ, СВЯЗАННЫЕ С БЛОКИРОВАНИЕМ СИНТЕЗА АТФ

При установлении инфекции, *Mtb* активно подавляют сигнальные пути в инфицированной клетке [29]. Для своего выживания в клетке, *Mtb* изменяет функцию и структуру митохондрий, воздействуя на них с помощью батареи секреторных факторов [37, 107]. Митохондрии – важнейшие клеточные органеллы, обеспечивающие синтез АТФ, биосинтез жирных кислот, хранение кальция, биогенез железа. Кроме того, митохондрии играют решающую роль в регуляции апоптоза и тесно связаны с пуринергическим сигнальным путем, влияющим на уровень иона кальция (рис. 3). Активные радикалы кислорода из митохондриальных кластеров в макрофагах могут проникать в фагосомы и угрожать выживанию *Mtb*. Показано, что митохондрии приобретают особую удлиненную структуру и имеют тенденцию накапливаться вокруг фагосом, содержащих *Mtb*. В митохондриях клеток макрофагальной линии ТНР-1, инфицированных *Mtb*, изменяются уровни различных компонентов цепи переноса электронов, такие как АТФ-синтаза FoF1 (АТР50), сукцинатдегидрогеназа, NADH-дегидрогеназа, цитохром *c*-оксидаза и NADH-цитохром *b5*-редуктаза [68]. Недавно было показано, что циклоспорин А, ингибитор проницаемости митохондриальной поры, увеличивает выживаемость макрофагов, происходящих из моноцитов

человека, инфицированных *Mtb*, и усиливает их антимикобактериальную активность [54].

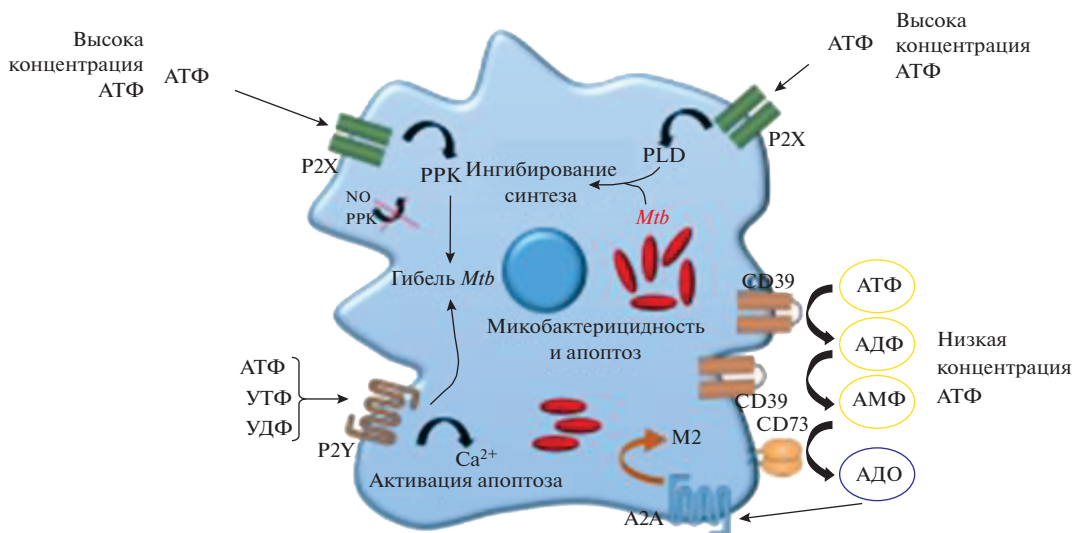
#### ФЕРМЕНТЫ ПУРИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ИММУННЫМИ КЛЕТКАМИ И *Mtb*

Пуринергический сигнальный путь контролируется несколькими важными ферментами, такими как ранее упоминаемые CD39 и CD73, аденозинкиназой (АК) и аденозиндезаминазой (АДА). *Mtb* также имеют некоторые ферменты, участвующие в метаболизме пуринов, которые задействованы в инфекционном процессе.

**Е-NTPDase1, эктоапираза CD39.** Показано, что CD39 является маркером регуляторных CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> Т-клеток человека и важным компонентом в реализации супрессорного действия популяции CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, активированных *M. bovis* [19]. Хотя клетки CD39<sup>+</sup> не способны продуцировать IFN $\gamma$ , они участвуют в подавлении неблагоприятного иммунного ответа, вовлекая рецепторы A2A на CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитах, и супрессируют продукции IFN $\gamma$  [16]. В крови больных активной формой туберкулеза выявили расширение популяции регуляторных Т-клеток CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> [32], что свидетельствует о подавлении защитного иммунного ответа к *Mtb* у таких больных.

**CD38.** CD38 – бифункциональный фермент, сочетающий в себе активность рибозилциклазы АДФ и гидролазы циклической АДФ-рибозы (цАДФР) [64, 100]. CD38 катализирует образование цАДФР и адениндинуклеотидфосфатаникотиновой кислоты, выполняющих функцию мобилизаторов кальция из внутриклеточных депо. CD38 может также контролировать гомеостаз никотинамидадениндинуклеотида (NAD<sup>+</sup>) в клетках различной природы и процессы, связанные с АДФ-рибозилированием белков, активацией NAD<sup>+</sup>-зависимых ферментов и выступать в качестве сенсора редокс-состояния [80, 116]. В иммунных клетках CD38 отвечает за передачу сигналов от рецепторов в активированных лимфоцитах и дендритных клетках (ДК). В Т-лимфоцитах передача сигналов от CD38 осуществляется через рецептор CD3 [6, 113, 125]. CD38 регулирует активацию зрелых моноцитарных ДК, играет важную роль в хемотаксисе, миграции и способствует выживанию зрелых ДК, обеспечивая поляризацию в сторону Th1-ответа [52, 123]. Экспрессия CD38 повышается на активированных клетках [6]. Показана информативность изучения экспрессии CD38 для прогнозирования прогрессии воспаления при мониторинге терапии больных ТБ и ВИЧ-инфекцией [98, 103]. Более того, несколько исследований показали возможность разделения активного туберкулеза и латентной туберкулезной инфекции с помощью активацион-





**Рис. 3.** Последствия активации макрофагов, инфицированных *Mtb*, различными концентрациями eATP. Высокие концентрации eATP (3–5 мМ) индуцируют активацию P2X7R на макрофагах, инфицированных *M. tuberculosis*, и вызывают уничтожение патогена. Уничтожение бактерий связано с образованием РРК, однако микобактерицидная активность обусловлена активацией фосфалипазы D (PLD). Высокие уровни eATP также вызывают апоптоз макрофагов. Рецепторы P2Y, представленные на макрофагах, менее специфичны и могут связывать уридинтрифосфат и уридиндифосфат, усиливая активацию клетки. Совместная активация рецепторов P2X7 и P2Y<sub>2,4,6</sub> приводит повышению концентрации внутриклеточного ионизированного кальция (Ca<sup>2+</sup>), а при длительной стимуляции стимулируют запуск апоптоза макрофага. При низких концентрациях молекулы eATP (100 мкМ) быстро превращаются в eAMP и eADO при участии ферментов CD39 и CD73. eAMP и eADO связывают аденозиновый рецептор A2A, что приводит к поляризации в сторону M2-подобного профиля макрофагов, инфицированных *M. tuberculosis* (Адаптировано из [81]).

ных маркеров CD38<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup> на *Mtb*-реактивных CD4 Т-клетках крови [10, 97].

**АТФ-синтаза.** АТФ-синтаза используется *Mtb*, когда инфекция становится неактивной. В этот период АТФ-синтаза активируется, поддерживая выживание бактерий [79]. Для синтеза АТФ АТФ-синтаза использует АДФ и пирофосфат [59]. При ингибировании АТФ-синтазы в *Mtb* происходит истощение АТФ, что вызывает гомеостатический дисбаланс (нарушение рН), который угрожает выживанию бактерий [12, 94]. АТФ-синтазу потенциально рассматривают как терапевтическую мишень при лечении ТБ и других инфекционных заболеваниях [49].

**Аденозиндезаминаза (ADA).** Изоферменты ADA1 и ADA2 контролируют уровень аденозина и дезоксиаденозина, путем необратимого дезаминирования при их трансформации в инозин. IFN $\gamma$  может регулировать скорость секреции ADA2 макрофагами [122], однако *Mtb* способны блокировать транскрипцию IFN $\gamma$ -зависимых генов, нарушая тем самым и метаболизм аденозина [109].

Экто-АДА-1 на поверхности клетки связывается с дипептидилпептидазой IV (ДПП IV) (CD26/ДПП IV), создавая комплекс, который защищает лимфоциты от действия внеклеточного аденозина. ADA1 и ADA2 также способствуют пролиферации CD4<sup>+</sup> Т-клеток и, следовательно, могут поддерживать активацию лимфоцитов

[122]. Для диагностики туберкулезного процесса активность ADA определяется в жидкостях, “локальных” для пораженного органа (например, в плевральном выпоте, синовиальной, спинномозговой или перитонеальной жидкости). При введении туберкулина степень активности ADA в сыворотке крови возрастает, что также используется в диагностических целях. После успешной терапии или удаления пораженного органа в условиях затихания туберкулезного воспалительного процесса наблюдается снижение активности ADA, а также снижается прирост ее активности в ответ на введение туберкулина [2]. При определении активности туберкулезного процесса ADA в сыворотке крови используют как дополнительный критерий оценки состояния больных с тяжелыми формами туберкулеза легких [1]. Определение активности ADA позволяет оценивать эффективность проводимой противотуберкулезной терапии [3, 4, 8]. Активность ADA в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, в спинномозговой жидкости, может использоваться в качестве диагностического инструмента у детей, страдающих туберкулезным менингитом [67]. Повышение уровня ADA в перечисленных ситуациях связано с преимущественным повышением активности экто-ADA2. В частности, дифференциальная диагностика больных туберкулезом и раком легких облегчается тем, что у больных ТБ активность и содержание ADA2 в ис-

следуемых жидкостях выше, чем ADA1 [41]. Снижение общей активности ADA после успешного лечения также в основном связано с уменьшением активности ADA2 [3, 61]. Для определения причин появления плеврального выпота эффективно также исследование активности щелочной фосфатазы (ЩФ), поскольку у больных ТБ уровень активности ЩФ в мокроте гораздо выше, чем у больных раком легких [66].

**Аденилциклаза** является одним из важнейших факторов вирулентности бактериальных патогенов. Этот фермент обеспечивает синтез циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) из АТФ. Одна из функций цАМФ, поступающего из *Mtb*, заключается в предотвращении слияния фагосом и лизосом [82, 95]. цАМФ из *Mtb* также влияет на передачу сигналов в клетках-хозяевах.

Приведенные данные свидетельствуют, что изучение активности ферментов пуринергического пути у больных ТБ дает важную информацию о ходе воспалительного процесса, помогает в дифференциальной диагностике и прогнозировании течения заболевания. Возможно, информация о различиях между структурами ферментов пуринергического метаболизма человека и *Mtb* может быть использована для разработки новых лекарственных препаратов. Например, активные сайты аденозинкиназы (АДК) *Mtb* биохимически и структурно отличаются от других известных АДК [77]. Это позволяет рассматривать этот фермент как мишень для разработки новых препаратов, блокирующих метаболические процессы в *Mtb* [78]. Другими мишенями могут стать ферменты нуклеозиддифосфаткиназа (NDPK) и АТФаза *Mtb* [92, 118, 119]. Активность растворимой NDPK *Mtb* связана с появлением цитотоксичности по отношению к макрофагам, гибель клеток в этом случае опосредована активацией P2X-рецепторов [33]. Предполагают, что скрининг на нетоксичные ингибиторы ферментов NDPK и АТФазы может быть успешным, поскольку специфические домены этих ферментов в достаточной степени отличаются от ферментов хозяина, и процесс их ингибирования может быть достаточно специфичным по отношению к ферментам патогенов. Такие ингибиторы будут тестироваться на использование в качестве лекарств, возможно, в сочетании с другими антибактериальными препаратами, блокирующими синтез структур клеточной стенки, таких как полисахариды или миколиновая кислота [117].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многочисленные исследования показали, что *Mtb* могут ускользать от иммунного ответа с помощью различных механизмов. Одним из этих механизмов является использование *Mtb* пуринергических сигнальных путей и пуриновых ме-

диаторов, которые контролируют большинство физиологических и патологических состояний. Приведенные в обзоре данные свидетельствуют, что *Mtb* прямо и косвенно задействованы в изменении/нарушении пуринергической регуляции как внутри инфицированной клетки, так и межклеточных пуринергических сигналах, что изменяет состояние тканеспецифичных клеток и клеток иммунной системы. Однако нельзя не признать, что имеющиеся данные все еще фрагментарны и не раскрывают всей картины сложных наложений и интерференции пуринергических сигналов макро- и микроорганизма. При получении более детальных знаний о влиянии *Mtb* на изменение внутриклеточной и тканевой пуринергической регуляции можно ожидать выявления новых мишеней для разработки противотуберкулезных препаратов, создания новых методов противовоспалительной терапии при ТБ и новых противотуберкулезных вакцинных препаратов в будущем.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баласанянц Г.С., Титаренко О.Т., Дьякова М.Е. Диагностическое и прогностическое значение определения АДА у больных острым прогрессирующим туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза. 2001. № 8. С. 46–49. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=29714500>
2. Гурьева О.И., Аксенова В.А. Диагностическое значение определения активности аденозиндезаминазы для раннего выявления туберкулезного лимфаденита у детей и подростков // Дальневосточный медицинский журн. 2011. № 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/diagnosticheskoe-znachenie-opredeleniya-aktivnosti-adenozindezaminazy-dlya-rannego-vyyavleniya-tuberkuleznogo-limfadenita-u-detey-i>
3. Дьякова М.Е., Алексеева Н.П., Эсмедляева Д.С. и др. Динамика показателей функциональной активности лейкоцитов у больных инфильтративным туберкулезом легких // Мед Альянс. 2018. № 2. С. 34–41. <https://www.elibrary.ru/contents.asp?id=35259977>
4. Краснов В., Зенков Н.К., Колпаков А.Р. и др. Активированные кислородные метаболиты при туберкулезе // Проблемы туберкулеза и болезней легких. 2005. V. 92(9). P. 9–17. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21198462>
5. Сахно Л.В., Хонина Н.А., Норкина О.В. и др. Участие оксида азота в развитии туберкулезной анергии у больных туберкулезом легких // Проблемы туберкулеза. 2001. V. 78(8). С. 42–46. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=36778497>
6. Соловьева И.А., Собко Е.А., Крапошина А.Ю. и др. Современные представления о роли CD38 в патогенезе бронхиальной астмы // Пульмонология. 2013. (5). 81–84. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2013-0-5-81-84>
7. Стрелис А., Новицкий В.В., Уразова О.И. и др. Продукция оксида азота мононуклеарами крови у больных лекарственно-чувствительными и лекарственно-устойчивым туберкулезом легких // Бюллетень

- сибирской медицины. 2006. V. 5(4). P. 57–61.  
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2006-4-57-61>
8. *Титаренко О.Т., Дьякова М.Е., Маничева О.А. и др.* Биологические свойства Mycobacterium tuberculosis и характеристика воспалительного ответа при инфильтративном туберкулезе легких // Инфекция и иммунитет. 2014. Т. 4. № 3. С. 221–228.  
<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22257477>
  9. *Abbraccio M.P., Jacobson K.A., Müller C.E. et al.* Professor Dr. Geoffrey Burnstock (1929–2020) // Purinergic Signal. 2020. V. 16. P. 137–149.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-020-09709-y>
  10. *Adekambi T., Ibegbu C.C., Cagle S. et al.* Biomarkers on patient T cells diagnose active tuberculosis and monitor treatment response // J. Clin. Invest. 2015. V. 125(5). P. 1827–1838.  
<https://doi.org/10.1172/JCI177990>
  11. *Amaral E.P., Ribeiro S.C., Lanes V.R. et al.* Pulmonary infection with hypervirulent Mycobacteria reveals a crucial role for the P2X7 receptor in aggressive forms of tuberculosis // PLoS Pathog. 2014. V. 10(7). P. e1004188.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004188>
  12. *Andries K., Verhasselt P., Guillemont J. et al.* A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of Mycobacterium tuberculosis // Science. 2005. V. 307(5707). P. 223–227.  
<https://doi.org/10.1126/science.1106753>
  13. *Antonioli L., Pacher P., Vizi E.S., Haskó G.* CD39 and CD73 in immunity and inflammation // Trends Mol. Med. 2013. V. 19(6). P. 355–367.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.03.005>
  14. *Antonioli L., Fornai M., Blandizzi C. et al.* Adenosine signaling and the immune system: When a lot could be too much // Immunol. Lett. 2019. V. 205. P. 9–15.  
<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.04.006>
  15. *Antonioli L., Giron M.C., Colucci R. et al.* Involvement of the P2X7 purinergic receptor in colonic motor dysfunction associated with bowel inflammation in rats // PloS one. 2014. V. 9(12). P. e116253.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116253>
  16. *Bai A., Moss A., Rothweiler S. et al.* NADH oxidase-dependent CD39 expression by CD8+ T cells modulates interferon gamma responses via generation of adenosine // Nat. Commun. 2015. V. 6(1). P. 1–12.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms9819>
  17. *Banerjee R.K.* Ecto-ATPase // Mol. Cel. Biochem. 1981. V. 37(2). P. 91–99.  
<https://doi.org/10.1007/BF02354932>
  18. *Benata K., Berrabah Y., Benahmed M.* The Impact of the Clinician Group Discussion in the Management of Extrapulmonary Tuberculosis in Developing Countries; A Comparative Cohort Study // C53. Global Experiences in TB and NTM care. 2020, American Thoracic Society. P. A5445–A5445. <https://www.atsjournals.org/doi/book/10.1164/ajrcm-conference.2020.C53>
  19. *Boer M.C., van Meijgaarden K.E., Bastid J. et al.* CD 39 is involved in mediating suppression by Mycobacterium bovis BCG-activated human CD 8+ CD 39+ regulatory T cells // Eur. J. Immunol. 2013. V. 43(7). P. 1925–1932.  
<https://doi.org/10.1002/eji.201243286>
  20. *Bomfim C.C.B., Amaral E.P., Cassado A.D.A. et al.* P2X7 receptor in bone marrow-derived cells aggravates tuberculosis caused by hypervirulent Mycobacterium bovis // Front. Immunol. 2017. V. 13(8). P. 435.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00435>
  21. *Bose Dasgupta S., Pieters J.* Macrophage-microbe interaction: lessons learned from the pathogen Mycobacterium tuberculosis // Semin. Immunopathol. 2018. V. 40(6). P. 577–591.  
<https://doi.org/10.1007/s00281-018-0710-0>
  22. *Bouchonnet F., Boechat N., Bonay M., Hance A.J.* Alpha/beta interferon impairs the ability of human macrophages to control growth of Mycobacterium bovis BCG // Infect. Immun. 2002. V. 70(6). P. 3020–3025.  
<https://doi.org/10.1128/iai.70.6.3020-3025.2002>
  23. *Bours M.J., Dagnelie P.C., Giuliani A.L. et al.* P2 receptors and extracellular ATP: a novel homeostatic pathway in inflammation // Front. Biosci. (Schol Ed.). 2011. V. 3. P. 1443–1456.  
<https://doi.org/10.2741/235>
  24. *Brüne B., A. von Knethen A., Sandau K.B.* Nitric oxide and its role in apoptosis // Eur. J. Pharmacol. 1998. V. 351(3). P. 261–272.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(98\)00274-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(98)00274-x)
  25. *Burnstock G.* Introduction to Purinergic Signaling // Methods Mol. Biol. 2020. V. 2041. P. 1–15.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9717-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9717-6_1)
  26. *Burnstock G.* Purinergic nerves. // Pharmacol Rev. 1972. V. 24(3). P. 509–81. PMID: 4404211
  27. *Burnstock G., Arnett T.R., Orriss I.R.* Purinergic signaling in the musculoskeletal system. // Purinergic signal. 2013. V. 9(4). P. 541–572.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-013-9381-4>
  28. *Burnstock G., Boeynaems J.-M.* Purinergic signalling and immune cells // Purinergic signal. 2014. V. 10(4). P. 529–564.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-014-9427-2>
  29. *Chen M., Gan H., Remold H.G.* A mechanism of virulence: virulent Mycobacterium tuberculosis strain H37Rv, but not attenuated H37Ra, causes significant mitochondrial inner membrane disruption in macrophages leading to necrosis // J. Immunol. 2006. V. 176(6). P. 3707–3716.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.6.3707>
  30. *Chi D.S., Neumann J.K., Mota-Marquez M., Dubberley F.A.* Effects of acute stress on lymphocyte beta 2-adrenoceptors in white males // J. Psychosom. Res. 1993. V. 37(7). P. 763–770.  
[https://doi.org/10.1016/0022-3999\(93\)90105-o](https://doi.org/10.1016/0022-3999(93)90105-o)
  31. *Chi D.S., Qui M., Krishnaswamy G. et al.* Regulation of nitric oxide production from macrophages by lipopolysaccharide and catecholamines // Nitric Oxide. 2003. V. 8(2). P. 127–132.  
[https://doi.org/10.1016/s1089-8603\(02\)00148-9](https://doi.org/10.1016/s1089-8603(02)00148-9)
  32. *Chiacchio T., Casetti R., Butera O. et al.* Characterization of regulatory T cells identified as CD4+ CD25highCD39+ in patients with active tuberculosis // Clin. Exp. Immunol. 2009. V. 156(3). P. 463–470.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.03908.x>
  33. *Chopra P., Singh A., Koul A. et al.* Cytotoxic activity of nucleoside diphosphate kinase secreted from Mycobacterium tuberculosis // Eur. J. Biochem. 2003. V. 270(4). P. 625–634.
  34. *Clarke L., Boucher R.* Chloride secretory response to extracellular ATP in human normal and cystic fibrosis nasal epithelia // Am. J. Physiol. 1992. V. 263(2 Pt 1). P. C348–C356.  
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.1992.263.2.C348>

35. *Cohn D.L.* Use of the bacille Calmette-Guerin vaccination for the prevention of tuberculosis: renewed interest in an old vaccine // *Am. J. Med. Sci.* 1997. V. 313(6). P. 372–376.  
<https://doi.org/10.1097/00000441-199706000-00010>
36. *Coleman J.W.* Nitric oxide in immunity and inflammation // *Int. Immunopharmacol.* 2001. V. 1(8). P. 1397–1406.  
[https://doi.org/10.1016/s1567-5769\(01\)00086-8](https://doi.org/10.1016/s1567-5769(01)00086-8)
37. *Danial N.N., Korsmeyer S.J.* Cell death: critical control points // *Cell.* 2004. V. 116(2). P. 205–219.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00046-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00046-7)
38. *Davies A.O., Lefkowitz R.J.* Agonist-promoted high affinity state of the  $\beta$ -adrenergic receptor in human neutrophils: modulation by corticosteroids // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1981. V. 53(4). P. 703–708.  
<https://doi.org/10.1210/jcem-53-4-703>
39. *Di Virgilio F., Dal Ben D., Sarti A.C., Giuliani A.L., Falzoni S.* The P2X7 receptor in infection and inflammation. // *Immunity.* 2017. V. 47(1). P. 15–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.020>
40. *Di Virgilio F., Falzoni S., Giuliani A.L., Adinolfi E.* P2 receptors in cancer progression and metastatic spreading // *Curr Opin. Pharmacol.* 2016. V. 29. P. 17–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.05.001>
41. *Dimakou K., Hillas G., Bakakos P.* Adenosine deaminase activity and its isoenzymes in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 2009. V. 13(6). P. 744–748. PMID: 19460251
42. *Dove S.L., Darst S.A., Hochschild A.* Region 4 of  $\sigma$  as a target for transcription regulation // *Mol. Microbiol.* 2003. V. 48(4). P. 863–874.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03467.x>
43. *Edwards F.A., Gibb A.J., Colquhoun D.* ATP receptor-mediated synaptic currents in the central nervous system. *Nature.* 1992. V. 359(6391). P. 144–147.  
<https://doi.org/10.1038/359144a0>
44. *Eltzschig H.K., Sitkovsky M.V., Robson S.C.* Purinergic signaling during inflammation // *N. Engl. J. Med.* 2012. V. 367(24). P. 2322–2333.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMra1205750>
45. *Evans R.J., Derkach V., Surprenant A.* ATP mediates fast synaptic transmission in mammalian neurons // *Nature.* 1992. V. 357(6378). P. 503–505.  
<https://doi.org/10.1038/357503a0>
46. *Fairbairn I.P., Stober C.B., Kumararatne D.S., Lamas D.A.* ATP-mediated killing of intracellular mycobacteria by macrophages is a P2X7-dependent process inducing bacterial death by phagosome-lysosome fusion // *J. Immunol.* 2001. V. 167(6). P. 3300–3307.  
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.6.3300>
47. *Fernando S.L., Saunders B.M., Sluyter R. et al.* A polymorphism in the P2X7 gene increases susceptibility to extrapulmonary tuberculosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007. V. 175(4). P. 360–366.  
<https://doi.org/10.1164/rccm.200607-970OC>
48. *Flesch I., Kaufmann S.* Mechanisms involved in mycobacterial growth inhibition by gamma interferon-activated bone marrow macrophages: role of reactive nitrogen intermediates // *Infect. Immun.* 1991. V. 59(9). P. 3213–3218.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.59.9.3213-3218.1991>
49. *Formentini L., Santacatterina F., Núñez de Arenas C. et al.* Mitochondrial ROS production protects the intestine from inflammation through functional M2 macrophage polarization // *Cell Rep.* 2017. V. 19(6). P. 1202–1213.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.036>
50. *Förstermann U., Sessa W.C.* Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur. Heart J.* 2012. V. 33(7). P. 829–837.  
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>
51. *Franco R., Casadó V., Ciruela F. et al.* Cell surface adenosine deaminase: much more than an ectoenzyme // *Prog. Neurobiol.* 1997. V. 52(4). P. 283–294.  
[https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(97\)00013-0](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(97)00013-0)
52. *Frasca L., Fedele G., Deaglio S. et al.* CD38 orchestrates migration, survival, and Th1 immune response of human mature dendritic cells // *Blood.* 2006. V. 107(6). P. 2392–2399.  
<https://doi.org/10.1182/blood-2005-07-2913>
53. *Frasson A.P., Menezes C.B., Goelzer G.K. et al.* Adenosine reduces reactive oxygen species and interleukin-8 production by *Trichomonas vaginalis*-stimulated neutrophils // *Purinergic signal.* 2017. V. 13(4). P. 569–577.  
<https://doi.org/10.1007/s11302-017-9584-1>
54. *Gan H., He X., Duan L. et al.* Enhancement of antimycobacterial activity of macrophages by stabilization of inner mitochondrial membrane potential // *J. Infect. Dis.* 2005. V. 191(8). P. 1292–1300.  
<https://doi.org/10.1086/428906>
55. *Giuliani A.L., Sarti A.C., Di Virgilio F.* Extracellular nucleotides and nucleosides as signalling molecules // *Immunol. lett.* 2019. V. 205. P. 16–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.11.006>
56. *Gonzalez-Angulo Y., Wiysonge C.S., Geldenhuys H. et al.* Sputum induction for the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2012. V. 31. P. 1619–1630.  
<https://doi.org/10.1007/s10096-011-1485-6.4>
57. *Gordon S.* The role of the macrophage in immune regulation // *Res. Immunol.* 1998. V. 149(7–8). P. 685–688.  
[https://doi.org/10.1016/s0923-2494\(99\)80039-x](https://doi.org/10.1016/s0923-2494(99)80039-x)
58. *Greenberg S.S., Xie J., Kolls J. et al.* Rapid induction of mRNA for nitric oxide synthase II in rat alveolar macrophages by intratracheal administration of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995. V. 209(1). P. 46–53.  
<https://doi.org/10.3181/00379727-209-43876>
59. *Haagsma A.C., Driessen N.N., Hahn M.M. et al.* ATP synthase in slow- and fast-growing mycobacteria is active in ATP synthesis and blocked in ATP hydrolysis direction // *FEMS Microbiol. Lett.* 2010. V. 313(1). P. 68–74.  
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2010.02123.x>
60. *Hagenlocker B.E., Walker B.A., Ward P.A.* Superoxide responses of immune complex-stimulated rat alveolar macrophages. Intracellular calcium and priming // *J. Immunol.* 1990. V. 144(10). P. 3898–3906. PMID: 2159036
61. *Haro M., Ruiz Manzano J., Morera J. et al.* Analysis of 90 cases of pleural tuberculosis in relation to adenosine deaminase levels // *Med. Clin. (Barc).* 1997. V. 108(12). P. 452–454. PMID: 9235414
62. *Haskó G., Linden J., Cronstein B., Pacher P.* Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2008. V. 7(9). P. 759–770. PMID: 18758473  
<https://doi.org/10.1038/nrd263818758473>

63. *Haskó, G., Pacher P.* A2A receptors in inflammation and injury: lessons learned from transgenic animals // *J. Leuk. Biol.* 2008. V. 83(3). P. 447–455. <https://doi.org/10.1189/jlb.0607359>
64. *Higashida H., Salmina A.B., Olovyannikova R.Y. et al.* Cyclic ADP-ribose as a universal calcium signal molecule in the nervous system // *Neurochem. Int.* 2007. V. 51(2–4). P. 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.06.023>
65. *Idzko M., Ferrari D., Eltzschig H.K.* Nucleotide signaling during inflammation // *Nature.* 2014. V. 509(7500). P. 310–317. <https://doi.org/10.1038/nature13085>
66. *Jadhav A.A., Jain A.* Sputum adenosine deaminase and alkaline phosphatase activity in pulmonary tuberculosis // *Arch. Physiol. Biochem.* 2012. V. 118(1). P. 6–9. <https://doi.org/10.3109/13813455.2011.645545>
67. *Jakka S., Veena S., Rao A.R., Eisenhut M.* Cerebrospinal fluid adenosine deaminase levels and adverse neurological outcome in pediatric tuberculous meningitis // *Infection.* 2005. V. 33(4). P. 264–266. <https://doi.org/10.1007/s15010-005-5005-4>
68. *Jamwal S., Midha M.K., Verma H.N. et al.* Characterizing virulence-specific perturbations in the mitochondrial function of macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis* // *Sci reports.* 2013. V. 3(1). P. 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep01328>
69. *Kaljas Y., Liu C., Skaldin M. et al.* Human adenosine deaminases ADA1 and ADA2 bind to different subsets of immune cells // *Cell. Mol. Life Sci.* 2017. V. 74(3). P. 555–570. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2357-0>
70. *Kälvegren H., Fridfeldt J., Bengtsson T.* The role of plasma adenosine deaminase in chemoattractant-stimulated oxygen radical production in neutrophils // *Eur. J. Cell. Biol.* 2010. V. 89(6). P. 462–467. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2009.12.004>
71. *Kim K.C., Lee B.C.* P2 purinoceptor regulation of mucin release by airway goblet cells in primary culture // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 103(1). P. 1053–1056. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1991.tb12299.x>
72. *Knapp S., Leemans J.C., Florquin S., Branger J. et al.* Alveolar macrophages have a protective antiinflammatory role during murine pneumococcal pneumonia // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003. V. 167(2). P. 171–179. <https://doi.org/10.1164/rccm.200207-698OC>
73. *Kusner D.J., Adams J.* ATP-induced killing of virulent *Mycobacterium tuberculosis* within human macrophages requires phospholipase D // *J. Immunol.* 2000. V. 164(1). P. 379–388. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.1.379>
74. *Lammas D.A., Stober C., Harvey C.J., Kendrick N.* ATP-induced killing of mycobacteria by human macrophages is mediated by purinergic P2Z (P2X7) receptors // *Immunity.* 1997. V. 7(3). P. 433–444. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80364-7](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80364-7)
75. *Ledent C., Vaugeois J.M., Schiffmann S.N. et al.* Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2a receptor // *Nature.* 1997. V. 388(6643). P. 674–678. <https://doi.org/10.1038/41771>
76. *Lee W.L., Gold B., Darby C. et al.* *Mycobacterium tuberculosis* expresses methionine sulphoxide reductases A and B that protect from killing by nitrite and hypochlorite // *Mol. Microbiol.* 2009. V. 71(3). P. 583–593. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06548.x>
77. *Long M.C., Escuyer V., Parker W.B.* Identification and characterization of a unique adenosine kinase from *Mycobacterium tuberculosis* // *J. Bacteriol.* 2003. V. 185(22). P. 6548–6555. <https://doi.org/10.1128/jb.185.22.6548-6555.2003>
78. *Long M.C., Shaddix S.C., Moukha-Chafiq O. et al.* Structure–activity relationship for adenosine kinase from *Mycobacterium tuberculosis*: II. Modifications to the ribofuranosyl moiety // *Biochem. Pharmacol.* 2008. V. 75(8). P. 1588–1600. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.01.022>
79. *Lu P., Lill H., Bald D.* ATP synthase in mycobacteria: special features and implications for a function as drug target // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1837(7). P. 1208–1218. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.01.022>
80. *Malavasi F., Deaglio S., Ferrero E. et al.* CD38 and CD157 as receptors of the immune system: a bridge between innate and adaptive immunity // *Mol. Med.* 2006. V. 12(11). P. 334–341. <https://doi.org/10.2119/2006-00094.Malavasi>
81. *Mason S., Paradiso A., Boucher R.* Regulation of transepithelial ion transport and intracellular calcium by extracellular ATP in human normal and cystic fibrosis airway epithelium // *Br. J. Pharmacol.* 1991. V. 103(3). P. 1649–1656. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1991.tb09842.x>
82. *Masure H.R., Shattuck R.L., Storm D.R.* Mechanisms of bacterial pathogenicity that involve production of calmodulin-sensitive adenylate cyclases // *Microbiol. Rev.* 1987. V. 51(1). P. 60. PMID: 2882409
83. *Mempin R., Tran H., Chen C. et al.* Release of extracellular ATP by bacteria during growth // *BMC Microbiol.* 2013. V. 13(1). P. 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-13-301>
84. *Mishra B.B., Rathinam V.A., Martens G.W. et al.* Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome–dependent processing of IL-1 $\beta$  // *Nature immunology.* 2013. V. 14(1). P. 52–60. <https://doi.org/10.1038/ni.2474>
85. *Mishra B.B., Lovewell R.R., Olive A.J. et al.* Nitric oxide prevents a pathogen-permissive granulocytic inflammation during tuberculosis // *Nat. Microbiol.* 2017. V. 2(7). P. 1–11. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.72>
86. *Molloy A., Laochumroonvorapong P., Kaplan G.* Apoptosis, but not necrosis, of infected monocytes is coupled with killing of intracellular bacillus Calmette-Guérin // *J. Exp. Med.* 1994. V. 180(4). P. 1499–1509. <https://doi.org/10.1084/jem.180.4.1499>
87. *Monastra G., Secchi E.F.*  $\beta$ -Adrenergic receptors mediate in vivo the adrenaline inhibition of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor release // *Immunol. Lett.* 1993. V. 38(2). P. 127–130. [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(93\)90177-4](https://doi.org/10.1016/0165-2478(93)90177-4)
88. *Omar S.A., Webb A.J.* Nitrite reduction and cardiovascular protection // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2014. V. 73. P. 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.01.012>
89. *Ortega E., Garcia J., De la Fuente M.* Modulation of adherence and chemotaxis of macrophages by norepinephrine. Influence of ageing // *Mol. Cell. Biochem.*

2000. V. 203(1–2). P. 113–117.  
<https://doi.org/10.1023/a:1007094614047>
90. *Petit-Jentreau L., Tailleux L., Coombes J.L.* Purinergic signaling: a common path in the macrophage response against *Mycobacterium tuberculosis* and *Toxoplasma gondii* // *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017. V. 7. P. 347.  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00347>
  91. *Placido R., Auricchio G., Falzoni S. et al.* P2X7 purinergic receptors and extracellular ATP mediate apoptosis of human monocytes/macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis* reducing the intracellular bacterial viability // *Cell Immunol.* 2006. V. 244(1). P. 10–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2007.02.001>
  92. *Punj V., Zaborina O., Dhiman N. et al.* Phagocytic cell killing mediated by secreted cytotoxic factors of *Vibrio cholera* // *Infect. Immun.* 2000. V. 68(9). P. 4930–4937.  
<https://doi.org/10.1128/iai.68.9.4930-4937.2000>
  93. *Ramachandra L., Qu Y., Wang Y., Lewis C.J. et al.* *Mycobacterium tuberculosis* synergizes with ATP to induce release of microvesicles and exosomes containing major histocompatibility complex class II molecules capable of antigen presentation // *Infect. Immune.* 2010. V. 78(12). P. 5116–5125.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.01089-09>
  94. *Rao M., Streur T.L., Aldwell F.E. et al.* Intracellular pH regulation by *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium bovis* BCG // *Microbiology (Reading)*. 2001. V. 147(4). P. 1017–1024.  
<https://doi.org/10.1099/00221287-147-4-1017>
  95. *Reddy S.K., Kamireddi M., Dhanireddy K. et al.* Eukaryotic-like Adenylyl Cyclases in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv: cloning and characterization // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276(37). P. 35141–35149.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M104108200>
  96. *Reutershan J., Vollmer I., Stark S. et al.* Adenosine and inflammation: CD39 and CD73 are critical mediators in LPS-induced PMN trafficking into the lungs // *The FASEB J.* 2009. V. 23(2). P. 473–482.  
<https://doi.org/10.1096/fj.08-119701>
  97. *Riou C., Gray C.M., Lugongolo M. et al.* A subset of circulating blood mycobacteria-specific CD4 T cells can predict the time to *Mycobacterium tuberculosis* sputum culture conversion // *PloS one*, 2014. V. 9(7). e102178.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102178>
  98. *Rodrigues D.S., Medeiros E.A., Weckx L.Y. et al.* Immunophenotypic characterization of peripheral T lymphocytes in *Mycobacterium tuberculosis* infection and disease // *Clin. Exp. Immunol.* 2002. V. 128(1). P. 149–154.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2002.01809.x>
  99. *Romagnoli A., Etna M.P., Giacomini E. et al.* ESX-1 dependent impairment of autophagic flux by *Mycobacterium tuberculosis* in human dendritic cells // *Autophagy*. 2012. V. 8(9). P. 1357–1370.  
<https://doi.org/10.4161/aut.20881>
  100. *Salmina A.B., Noda M., Higashida H.* ADP-ribosyl cyclase as a therapeutic target for central nervous system diseases // *Cent. Nerv. Syst. Agents. Med. Chem. (Formerly Curr Med. Chem-Central Nervous System Agents)*, 2006. V. 6(3). P. 193–210.  
<https://doi.org/10.2174/187152406778226699>
  101. *Salvatore C.A., Tilley S.L., Latour A.M.* Disruption of the A3 adenosine receptor gene in mice and its effect on stimulated inflammatory cells // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275(6). P. 4429–4434.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.275.6.4429>
  102. *Sánchez de Miguel L., Arriero M.M., Farré J. et al.* Nitric oxide production by neutrophils obtained from patients during acute coronary syndromes: expression of the nitric oxide synthase isoforms // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002. V. 39(5). P. 818–825.  
[https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(01\)01828-9](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(01)01828-9)
  103. *Santos-Argumedo L.* CD38 *Encyclopedia of Signaling Molecules*, S. Choi, Editor. 2018, Springer International Publishing: Cham. P. 869–877. ISBN 978-3-319-67198-7.
  104. *Scanga C.A., Mohan V.P., Tanaka K. et al.* The inducible nitric oxide synthase locus confers protection against aerogenic challenge of both clinical and laboratory strains of *Mycobacterium tuberculosis* in mice // *Infect. Immun.* 2001. V. 69(12). P. 7711–7717.  
<https://doi.org/10.1128/IAI.69.12.7711-7717.2001>
  105. *Shui W., Gilmore S.A., Sheu L. et al.* Quantitative proteomic profiling of host – pathogen interactions: the macrophage response to *Mycobacterium tuberculosis* lipids // *J. Proteome Res.* 2009. V. 8(1). P. 282–289.  
<https://doi.org/10.1021/pr800422e>
  106. *Sitkovsky M.V., Ohta A.* The ‘danger’ sensors that STOP the immune response: the A2 adenosine receptors? // *Trends Immunol.* 2005. V. 26(6). P. 299–304.  
<https://doi.org/10.1016/j.it.2005.04.004>
  107. *Sturgill-Koszycki S., Schlesinger P.H., Chakraborty P. et al.* Lack of acidification in *Mycobacterium* phagosomes produced by exclusion of the vesicular proton-ATPase // *Science*. 1994. V. 263(5147). P. 678–681.  
<https://doi.org/10.1126/science.8303277>
  108. *Sun D., Samuelson L.C., Yang T. et al.* Mediation of tubuloglomerular feedback by adenosine: evidence from mice lacking adenosine 1 receptors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98(17). P. 9983–9988.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.171317998>
  109. *Ting L.-M., Kim A.C., Cattamanchi A., Ernst J.D.* *Mycobacterium tuberculosis* inhibits IFN- $\gamma$  transcriptional responses without inhibiting activation of STAT1 // *J. Immunol.* 1999. V. 163(7). P. 3898–3906. PMID: .10490990
  110. *Tsuda M., Tozaki-Saitoh H., Inoue K.* Pain and purinergic signaling // *Brain. Res. Rev.* 2010. V. 63(1–2). P. 222–232.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.11.003>
  111. *Vandal O.H., Roberts J.A., Odaira T. et al.* Acid-susceptible mutants of *Mycobacterium tuberculosis* share hypersusceptibility to cell wall and oxidative stress and to the host environment // *J. Bacteriol.* 2009. V. 191(2). P. 625–631.  
<https://doi.org/10.1128/JB.00932-08>
  112. *Wang J., Peng Y., Sun Y.W. et al.* All-trans retinoic acid induces XAF1 expression through an interferon regulatory factor-1 element in colon cancer // *Gastroenterology*. 2006. V. 130(3). P. 747–758.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.12.017>
  113. *Wang X., Chen D.* Purinergic regulation of neutrophil function // *Front. Immunol.*, 2018. V. 9. P. 399.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00399>
  114. *Warburton D., Buckley S., Cosico L.* P1 and P2 purinergic receptor signal transduction in rat type II pneumocytes // *J. Appl. Physiol.* 1989. V. 66(2). P. 901–905.  
<https://doi.org/10.1152/jap.1989.66.2.901>

115. *World-Health-Organization*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. 2020.
116. *Yamasaki M., Churchill G.C., Galione A.* Calcium signalling by nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) // *FEBS J.* 2005. V. 272(18). P. 4598–4606. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04860.x>
117. *Young D.B., Duncan K.* Prospects for new interventions in the treatment and prevention of mycobacterial disease // *Annu Rev. Microbiol.* 1995. V. 49(1). P. 641–673. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.003233>
118. *Zaborina O., Misra N., Kostal J. et al.* P2Z-independent and P2Z receptor-mediated macrophage killing by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients // *Infect. Immun.* 1999. V. 67(10). P. 5231–5242. <https://doi.org/10.1128/IAI.67.10.5231-5242.1999>
119. *Zaborina O., Li X., Cheng G. et al.* Secretion of ATP-utilizing enzymes, nucleoside diphosphate kinase and ATPase, by *Mycobacterium bovis* BCG: sequestration of ATP from macrophage P2Z receptors? // *Mol. Microbiol.* 1999. V. 31(5). P. 1333–1343. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01240.x>
120. *Zarrinmayeh H., Territo P.R.* Purinergic Receptors of the Central Nervous System: Biology, PET Ligands, and Their Applications // *Mol. Imaging.* 2020 V. 19. P. 1536012120927609. <https://doi.org/10.1177/1536012120927609>
121. *Zavialov A.V., Engström Å.* Human ADA2 belongs to a new family of growth factors with adenosine deaminase activity // *Biochem. J.* 2005. V. 391(Pt 1). P. 51–57. <https://doi.org/10.1042/BJ20050683>
122. *Zavialov A.V., Gracia E., Glaichenhaus N. et al.* Human adenosine deaminase 2 induces differentiation of monocytes into macrophages and stimulates proliferation of T helper cells and macrophages // *J. Leukoc. Biol.* 2010. V. 88(2). P. 279–290. <https://doi.org/10.1189/jlb.1109764>
123. *Zimmermann H.* Ectonucleotidases: some recent developments and a note on nomenclature // *Drug. Dev. Res.* 2001. V. 52(1–2). P. 44–56. <https://doi.org/10.1002/ddr.1097>
124. *Zimmermann H. Braun N.* Ecto-nucleotidases—molecular structures, catalytic properties, and functional roles in the nervous system. *Prog. Brain Res.* 1999, Elsevier. P. 371–385. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)63570-0](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)63570-0)
125. *Zubiaur M., Fernández O., Ferrero E. et al.* CD38 is associated with lipid rafts and upon receptor stimulation leads to Akt/protein kinase B and Erk activation in the absence of the CD3- $\zeta$  immune receptor tyrosine-based activation motifs // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277(1). P. 13–22. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107474200>
126. *Zulauf K.E., Sullivan J.T., Braunstein M.* The SecA2 pathway of *Mycobacterium tuberculosis* exports effectors that work in concert to arrest phagosome and autophagosome maturation // *PLoS pathog.* 2018. V. 14(4). e1007011. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007011>

## Purinergic Regulation of Defense Reactions Against *Mycobacterium Tuberculosis*

N. B. Serebryanaya<sup>1, 2, \*</sup> and M. Kamran Sarkandi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Experimental Medicine Ministry of Education and Science, St. Petersburg, 197022 Russia*

<sup>2</sup> *St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia*

\*e-mail: nbvma@mail.ru

**Abstract**—Tuberculosis, an infectious process caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), is the leading cause of death from infectious diseases in the world. Virulent *Mtb* have adapted to survive in host macrophages through the use of various strategies for evading the immune response. The aim of this study is to identify the components of purinergic metabolism that *Mtb* use as virulence factors. During the work, publications in PubMed for 1972–2020 were analyzed. The purinergic signaling pathway is initiated by extracellular purine nucleotides (eATP, etc.), which are released upon cell damage. High concentrations of ATP cause the activation of P2X7 receptors on *Mtb*-infected macrophages and contribute to the destruction of the pathogen. In chronic *Mtb* infection, total ATP generation is reduced, but virulent *Mtb* can significantly increase the ATP/ADP ratio. Proteins secreted by virulent *Mtb* can stimulate macrophage apoptosis. *Mtb* are able to counteract the bactericidal action of macrophages by producing catalase-peroxidase, which deactivates reactive oxygen and nitrogen radicals. The influx of neutrophils creates an inflammatory microenvironment that promotes *Mtb* survival, growth and replication. In pulmonary tuberculosis, neutrophils are primarily involved in immune-mediated tissue damage. These phagocytes are attracted to the site of inflammation by ATP molecules, and then the enzymes of neutrophils CD39 and CD73 can convert ATP into AMP and adenosine, which provides local immunosuppression. To maintain the required level of ATP and survival during the transition to the resting phase, ATP synthase is activated in *MTB*. Nucleoside Diphosphate Kinase (NDPK) Enzymes *Mtb* produces nucleoside triphosphates for the synthesis of RNA, DNA and polysaccharides. For effective treatment of tuberculosis, it is necessary to counteract bacterial virulence, which is impossible without normalizing the purine metabolism of the host organism and restoring purinergic signals.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis, purinergic regulation, specific inflammation, immune response, P2X7

## СИРТУИНЫ И СТАРЕНИЕ

© 2022 г. А. Э. Пухальская<sup>а</sup>, И. М. Кветной<sup>б, с</sup>, Н. С. Линькова<sup>а, д, е, \*</sup>,  
А. С. Дятлова<sup>а</sup>, Е. О. Гутоп<sup>а</sup>, К. Л. Козлов<sup>а</sup>, М. А. Пальцев<sup>в</sup>

<sup>а</sup>Отдел биogerонтологии АНО ВО НИЦ “Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии”,  
Санкт-Петербург, 197110 Россия

<sup>б</sup>Кафедра патологии Санкт-Петербургского государственного университета,  
Санкт-Петербург, 199034 Россия

<sup>с</sup>Центр молекулярной биомедицины ФГБУ “Санкт-Петербургский научно-исследовательский  
институт фтизиопульмонологии” МЗ РФ, Санкт-Петербург, 191036 Россия

<sup>д</sup>Кафедра терапии, гериатрии и антивозрастной медицины Академии постдипломного образования  
ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, Москва, 125371 Россия

<sup>е</sup>Кафедра медико-биологических дисциплин, ФГАОУ ВО “Белгородский национальный исследовательский  
государственный университет”, Санкт-Петербург, 308015 Россия

<sup>ж</sup>Центр иммунологии и молекулярной биомедицины, ФГБОУ ВПО “Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова”, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: miayu@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.06.2021 г.

После доработки 02.07.2021 г.

Принята к публикации 30.08.2021 г.

Белки семейства сиртуинов (SIRT) участвуют в репарации ДНК, ремоделировании хроматина, эпигенетической регуляции экспрессии генов метаболизма, антиоксидантной системы, апоптоза, иммуно- и нейрогенеза и др. Цель обзора – анализ геропротекторных свойств сиртуинов в норме и при ассоциированной с возрастом патологии. SIRT1,2,3,4,6 способствуют увеличению продолжительности жизни. SIRT1,2,6,7 замедляют клеточное старение и поддерживают пул стволовых клеток. Сиртуины являются потенциальными мишенями для терапии нейродегенеративных, онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, метаболического синдрома и сахарного диабета. Все эти заболевания в большинстве случаев характерны для лиц пожилого и старческого возраста, поэтому геропротекторные эффекты сиртуинов, реализуемые на молекулярном и клеточном уровнях, могут играть важную роль в их терапии.

**Ключевые слова:** сиртуины, клеточное старение, геропротекция, ассоциированные с возрастом заболевания

**DOI:** 10.31857/S0301179821040056

### ВВЕДЕНИЕ

Сиртуины (sirtuins, SIRT) – семейство НАД-зависимых гистоновых деацетилаз, регулирующих функции клеток и различных метаболических путей в норме, при старении и возраст-ассоциированной патологии [17]. Сиртуины относят к III классу гистоновых деацетилаз. Основным отличием сиртуинов от других классов этих белков является необходимость наличия никотинамидадениндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>) в качестве кофактора для протекания реакции.

Филогенетический анализ делит 7 сиртуинов млекопитающих (SIRT1–7) на 4 класса: SIRT1–3 относятся к классу I, SIRT4 – к классу II, SIRT5 – к классу III, SIRT6–7 – к классу IV [24]. Кроме того, сиртуины млекопитающих также можно

разделить на категории в соответствии с их субклеточной локализацией: SIRT1,6,7 локализованы в ядре, SIRT3,4,5 – в митохондриях, SIRT2 – преимущественно в цитоплазме [34]. Разница в субклеточной локализации, различия в паттернах экспрессии и многообразии субстратов определяют широкий спектр биологических функций сиртуинов.

Первоначально сиртуины были описаны как гистоновые деацетилазы у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [38, 43]. Помимо функции деацетилирования гистонов, сиртуины также осуществляют деацетилирование лизина у большого диапазона негистоновых клеточных белков, регулируя их активность. Спектр функций сиртуинов расширялся с момента их открытия; имеются данные о роли сиртуинов в осуществлении посттрансляци-



онных модификаций [71]. SIRT3,4,5,6 могут функционировать как АДФ-рибозилтрансферазы [29, 56, 90], а SIRT5 способен к десукцинированию и демалонилированию [19, 76].

Помимо доступности НАД<sup>+</sup> и субклеточной локализации, существует несколько дополнительных механизмов регуляции, которые вносят вклад в активность сиртуинов. Таким образом, существует возможность активации различных сиртуинов с последующей стимуляцией разнообразных субстратов. К дополнительным механизмам регуляции функций сиртуинов относятся факторы транскрипции, микроРНК, посттрансляционные модификации, белок-белковые взаимодействия и регуляцию с помощью “малых молекул”, например, коротких пептидов [34, 48, 101]. При помощи таких регуляторных механизмов стимулы окружающей среды, например, ограничение калорийности питания, контролируют экспрессию и/или активность сиртуинов. Поэтому сиртуины считаются чувствительными к стрессу ферментами, которые регулируют адаптацию клеток к изменению гомеостаза, модулируя профиль ацетилирования белков. Установлено, что сиртуины регулируют продолжительность жизни различных видов организмов, включая дрожжи, нематод, дрозофил [12, 28] и млекопитающих [40].

Большое количество исследований сиртуинов посвящено их роли в старении и развитии ассоциированных с возрастом заболеваний. Многообразие белков, активность которых может изменяться посредством ацетилирования лизина, дает основание полагать, что сиртуины являются основными регуляторами жизнедеятельности клеток: экспрессии генов, метаболизма, активности теломеразы, клеточного цикла, дифференцировки, апоптоза, пролиферации, репарации ДНК, клеточного старения и реакции на окислительный стресс [70].

**Цель обзора** – анализ геропротекторных свойств белков семейства сиртуинов в норме и при ассоциированной с возрастом патологии.

## ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 1

Упоминания о сиртуинах как о регуляторах клеточного старения появились в 1997 г. при обнаружении их в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*: у дрожжей с избыточной экспрессией гена *sir2* наблюдалось повышенное число делений по сравнению с контрольным штаммом [38, 43]. Далее было показано, что белок, кодируемый у дрожжей геном *sir2*, регулирует экспрессию генов посредством эпигенетических механизмов, а также участвует в репарации ДНК. У животных и человека белком, гомологичным дрожжевому Sir2, является SIRT1. Последующие исследования показа-

ли, что повышенная экспрессия гена *Sirt1* также повышает продолжительность жизни *Caenorhabditis elegans*, мух и нематод. Сверхэкспрессия гомологов SIRT1 у мышей может способствовать увеличению продолжительности жизни [79].

Экспрессия SIRT1 снижается с возрастом в печени, сердце, почках, головном мозге и легких человека [1, 2, 8, 15, 41]. Установлено, что синтез SIRT1 в эндотелии и гладкомышечных клетках при старении снижается [16, 19, 46]. Применение активатора SIRT1, ресвератрола, ингибировало апоптоз и способствовало выживаемости клеток миобластов линии C2C12 [33]. Повышенная экспрессия SIRT1, по-видимому, играет важную роль в замедлении процесса старения клеток пульпозного ядра, способствуя их пролиферации и снижению апоптоза [27].

Гиперэкспрессия SIRT1 в головном мозге мышей коррелирует с увеличением продолжительности жизни [79]. Активация SIRT1 замедляет ускоренное старение дермальных фибробластов человека, вызванное ультрафиолетовым излучением [54].

Одной из ключевых мишеней SIRT1, задействованной в процессах клеточного старения, является транскрипционный фактор p53 [14]. Известно, что при стрессе и воспалении из-за повреждений ДНК, гипоксии и образования активных форм кислорода (АФК) происходит ацетилирование p53 в ядре, что приводит к его стабилизации и увеличению ДНК-связывающей активности. Это ведет к увеличению транскрипции генов, участвующих в проапоптотических каскадах. Протекторная роль SIRT1 заключается во взаимодействии с белком p53 через деацетилирование 382-го остатка лизина на С-конце белка [91]. НАД<sup>+</sup> играет роль кофактора и связывается с тетрамерами p53, изменяя его конформацию и предотвращая связывание с ДНК. Это снижает p53-опосредованную транскрипционную активность и экспрессию проапоптотических белков, таких как ингибитор клеточного цикла p21. Таким образом, SIRT1 может ингибировать p53-зависимую остановку клеточного цикла и апоптоз, усиливая репарацию ДНК, способствуя поддержанию целостности генома и выживаемости клеток.

Помимо p53, транскрипционным фактором, участвующим в регуляции процессов клеточного старения и апоптоза является белок NF-κB. Активация NF-κB наблюдается при многих патологических процессах, таких как диабет, болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона (БП). Продолжительная активация NF-κB не только связана с клеточным старением, но и ускоряет его [105]. SIRT1 является негативным регулятором сигнального пути NF-κB [21], деацетилируя 310-й остаток лизина белка p65 – субъединицы NF-κB. Ацетилирование p65 увеличивает транскрипци-

онную активность комплекса NF-κB, а SIRT1 – опосредованное деацетилирование, и подавляет сигналинг NF-κB [100]. SIRT1 обладает антиатеросклеротическим действием, ингибируя сигналинг NF-κB в эндотелии сосудов [16]. Показано, что дефицит SIRT1 у мышей в остеобластах и остеокластах активирует NF-κB за счет увеличения ацетилирования p65 по 310-му лизину, что приводит к снижению костной массы и ускоряет старение костей [21].

Следующим путем, в регуляцию которого вовлечен SIRT1, является сигнальный путь AMPK. AMPK – высококонсервативная серин/треониновая протеинкиназа, регулирующая энергетический метаболизм и выживаемость клеток [36]. Активация AMPK способствует увеличению продолжительности жизни *C. elegans* на 13% [11]. SIRT1 и AMPK могут взаимно усиливать активность друг друга [85]. AMPK усиливает активность SIRT1 посредством увеличения клеточного уровня НАД<sup>+</sup> в результате деацетилирования PGC1α, нижестоящей мишени SIRT1 [106]. Кроме того, активация AMPK замедляет старение клеток, индуцируя аутофагию [22].

Установлено, что клеточное старение тесно связано с дисфункцией митохондрий [92]. Митохондриальная дисфункция способствует синтезу АФК и усугубляет прогрессирующий с возрастом окислительный стресс [78]. PGC1α – основной транскрипционный коактиватор в регуляции митохондриальных функций и поддержании гомеостаза клетки. SIRT1 деацетирует PGC1α и, таким образом, участвует в регуляции функции митохондрий, повышая митохондриальный биогенез [47]. Активация SIRT1 предотвращает старение эндотелия за счет деацетилирования PGC-1α и PPARα, что приводит к подавлению продукции АФК, опосредованной НАДФН-оксидазой, и инактивации оксида азота [102].

mTOR – еще один ключевой регулятор процессов старения организма. Подавление активности mTOR увеличивает продолжительность жизни у различных организмов [6, 18, 95]. SIRT1 и mTOR участвуют в регуляции старения посредством регуляции аутофагии. При окислительном стрессе происходит нарушение процессов аутофагии, а SIRT1 восстанавливает их до нормального уровня и улучшает выживаемость эмбриональных стволовых клеток за счет блокирования пути mTOR [72]. Кроме того, ингибирование SIRT1 активирует сигналинг mTOR, что ведет к нарушениям аутофагии. Показано, что SIRT1 взаимодействует с белком TSC2, который является вышестоящим ингибитором TORC1 и негативно регулирует сигналинг mTOR TSC2-зависимым способом [26]. Подавление SIRT1 увеличивает ацетилирование TSC2 в его N-концевом домене, что сопровождается повышением его статуса бел-

ка убиквитинирования и приводит к активации mTORC1 [25].

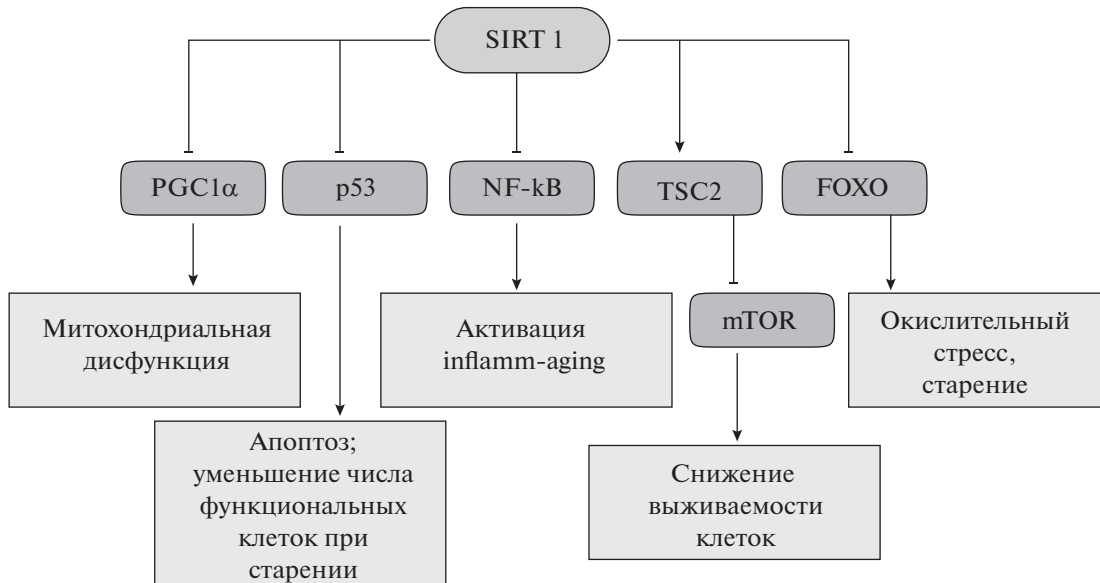
Факторы транспозиции FOXO представляют семейство белков, которые функционируют как сенсоры в сигнальном пути инсулина. FOXO участвуют в различных физиологических и патологических процессах, включая окислительный стресс, репарацию ДНК, аутофагию, остановку клеточного цикла. Семейство FOXO состоит из FOXO1, FOXO3, FOXO4 и FOXO6 у млекопитающих [4]. На транскрипционную активность FOXO влияют посттрансляционные модификации, такие как фосфорилирование и ацетилирование [60]. FOXO1, FOXO3, FOXO4 ацетируются ацетилтрансферазой CBP/p300 в ответ на клеточный стресс. SIRT1 регулирует функции белков FOXO путем деацетилирования, предотвращая окислительный стресс и старение [67].

Таким образом, геропротекторное действие SIRT1 реализуется через регуляцию сигнальных путей p53, NF-κB, mTOR, PGC1α, FOXO (рис. 1). Указанные механизмы регуляции с участием SIRT1 способствуют замедлению старения на уровне клеток, органов и тканей. Это выражается в замедлении темпов старения головного мозга, сердца, печени, легких, кожи, гладкомышечной ткани, эндотелия сосудов и повышении продолжительности жизни.

## ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 2

SIRT2 экспрессируется в большом количестве структур центральной нервной системы (ЦНС), включая гиппокамп, стриатум, кору головного мозга и спинной мозг. Показано, что изоформа SIRT2.3 накапливается в ЦНС мышей при старении [9]. Установлено, что субстратами SIRT2 являются более 40 белков, задействованных в разнообразных внутриклеточных сигнальных путях, регулирующих канцерогенез, окислительно-восстановительный баланс, пролиферацию и дифференцировку клеток [93].

SIRT2 замедляет старение гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). С возрастом ГСК становятся более чувствительными к митохондриальному стрессу, и в них наблюдается повышенная активация основного компонента инфламмосом NLRP3. Вероятно, это происходит из-за подавления экспрессии SIRT2. Сверхэкспрессия SIRT2 может ингибировать активацию NLRP3 и замедлять старение ГСК [59]. Экспрессия SIRT2 снижается при старении ооцитов крупного рогатого скота. Обработка ооцитов ингибитором SIRT2 приводила к высокому уровню окислительного стресса, аномальному распределению митохондрий и низкой продукции АТФ. Старение ооцитов сопровождалось апоптозом, а ингибирование



**Рис. 1.** Геропротекторные эффекты Sirt1. Стрелками обозначена положительная регуляция, горизонтальной чертой – отрицательная регуляция.

SIRT2 увеличивало интенсивность апоптоза ооцитов при старении. Таким образом, инактивация SIRT2 является ключевым механизмом, лежащим в основе клеточного старения ооцитов [96].

У мышей, гипоморфных по гену протеинкиназы митотической контрольной точки, *BubR1*, продолжительность жизни ниже, чем у животных со сверхэкспрессией этого гена. По мере старения мышей дикого типа синтез белка *BubR1* снижается во многих тканях. Предполагается, что этот процесс лежит в основе нормального старения и ассоциированных с возрастом заболеваний. Показано, что снижение уровня белка *BubR1* в различных органах и тканях с возрастом происходит из-за уменьшения уровня НАД<sup>+</sup> и способности SIRT2 поддерживать лизин K668 в белке *BubR1* в деацетилированном состоянии. Сверхэкспрессия SIRT2 повышает количество белка *BubR1 in vivo* и среднюю продолжительность жизни у самцов мышей [69].

SIRT2 может предотвращать дегенерацию межпозвоночных дисков, связанную со старением клеток пульпозного ядра. Установлено, что IL-1 $\beta$  способствовал увеличению степени дегенерации клеток межпозвоночного диска и снижению в них экспрессии гена *Sirt2*. При этом гиперэкспрессия *Sirt2* может отменять эффекты IL-1 $\beta$ , приводя к увеличению экспрессии гена антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы (СОД) и снижая уровень окислительного стресса. Кроме того, сверхэкспрессия *Sirt2* ингибирует путь p53/p21, предотвращая клеточное старение и дегенерацию клеток пульпозного ядра [99]. Взаимодействие SIRT2 с маркером клеточного старения

p53 подтверждается результатами иммунопреципитации хроматина, которая выявила присутствие сайтов связывания p53 на промоторе SIRT2 [5].

Таким образом, геропротекторные эффекты SIRT2 связаны с его способностью регулировать сигнальные каскады с участием NLRP3, *BubR1*, IL-1 $\beta$ , p53/p21. В результате SIRT2 замедляет старение стволовых клеток, оказывает антиоксидантное, противовоспалительное и нейропротекторное действие, повышая продолжительность жизни животных.

### ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 3

SIRT3 главным образом локализован в клетках тканей с высокой метаболической активностью и рассматривается в качестве регулятора митохондриального метаболизма [68]. Уровень SIRT3 на 40% снижается в клетках различных органов и тканей у пожилых людей, ведущих малоподвижный образ жизни, но его синтез может быть активирован ограничением калорийности питания [52].

У мышей с нокаутом гена *Sirt3* наблюдались гипертрофия и фиброз миокарда, снижение продолжительности жизни [7]. Вероятно, это происходит потому, что одной из мишеней SIRT3 является белок FOXO3, деацетилирование и активация которого приводят к увеличению транскрипции антиоксидантных генов, СОД и каталазы [84].

SIRT3 активирует множество белковых мишеней, модулируя ключевые клеточные и физиологические процессы, что приводит к увеличению

продолжительности жизни. Многие из этих процессов опосредуются снижением продукции АФК за счет деацетилованных СОД2 и IDH2. [58].

В культуре эндотелиальных клеток гипоксия стимулирует экспрессию SIRT3 и SIRT3-зависимую передачу антиоксидантных сигналов, что предотвращает повреждение митохондрий и способствует выживаемости клеток. Дефицит SIRT3 вызывает митохондриальную дисфункцию гладкомышечных клеток легочной артерии у грызунов и человека, что приводит к ремоделированию сосудов и возникновению легочной гипертензии [77]. Нокаут гена *Sirt3* способствует развитию метаболического синдрома, являющегося фактором возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. У старых мышей в ткани почек наблюдается снижение синтеза SIRT3 на 50% по сравнению с этим показателем у молодых животных [55]. Снижение синтеза SIRT3 в митохондриях связана с рядом возрастных патологий, включая рак, инсулинорезистентность, болезни сердца, фиброз и нейродегенерацию [63].

Экспрессия SIRT3 снижена при некоторых формах рака молочной железы, печени и желудка [23, 98] и связана с низкой выживаемостью при гепатоцеллюлярной карциноме [104]. Эти исследования демонстрируют способность SIRT3 замедлять рост опухолей.

Снижение функции митохондрий при старении сопровождается развитием гипергликемии и гиперинсулинемии. В печени мышей линии SIRT3KO с нокаутом гена *Sirt3* накапливаются длинноцепочечные ацилкарнитиновые формы кофермента А дегидрогеназы, что нарушает окисление жирных кислот и приводит к развитию метаболической патологии [32]. У мышей линии SIRT3KO на диете с высоким содержанием жиров выявлено ускоренное развитие метаболического синдрома: дисфункция  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, нарушение толерантности к глюкозе, инсулинорезистентность, увеличение веса [31]. Временный нокаут SIRT3 в культуре  $\beta$ -клеток поджелудочной железы приводит к повышению генерации АФК и нарушению секреции инсулина, а сверхэкспрессия SIRT3 устраняет липотоксические нарушения [44]. Экспрессия и активность SIRT3 в печени снижаются при питании с высоким содержанием жиров, что приводит к гиперацилированию белков, усилению липотоксических состояний и стеатозу печени [41]. У диабетиков в островках Лангерганса поджелудочной железы наблюдается снижение синтеза SIRT3. У мышей с нокаутом гена *Sirt3* нарушаются процессы  $\beta$ -окисления липидов в кардиомиоцитах, снижена активность комплекса окислительного фосфорилирования и продукция АТФ [3]. Эти данные свидетельствуют о том, что SIRT3 играет важную роль в развитии метаболического син-

дрома, сахарного диабета и кардиоваскулярной патологии, являющихся ассоциированными с возрастом заболеваниями.

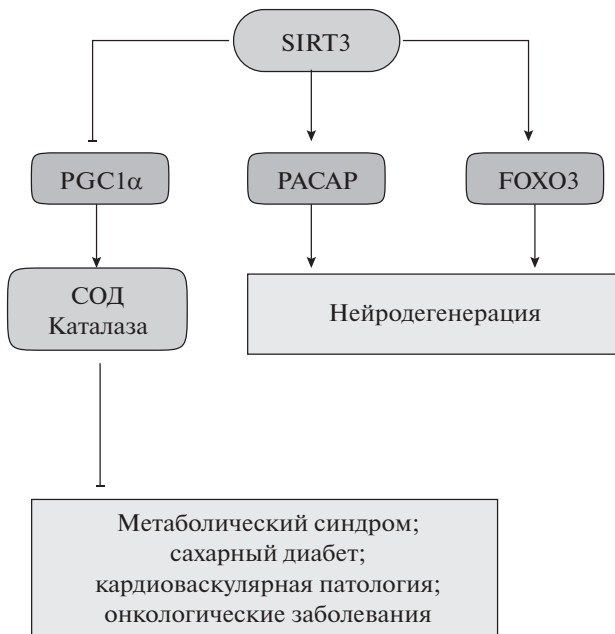
SIRT3 экспрессируется в головном мозге и других тканях нервной системы [103]. Поскольку SIRT3 регулирует метаболический гомеостаз, предполагают, что он может способствовать защите от развития нейродегенеративных заболеваний. SIRT3 может восстанавливать потерю нейронов в различных моделях нейродегенерации. В культуре первичных кортикальных нейронов при добавлении токсичного пептида А $\beta$ 42 развивается апоптоз. Полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (PACAP) защищает нейроны от воздействия А $\beta$ 42 путем повышения экспрессии SIRT3. Опосредованный PACAP нейропротекторный эффект теряется при подавлении в культивируемых нейронах экспрессии SIRT3. Сверхэкспрессия SIRT3 вызывает устойчивость нейронов к окислительному стрессу и увеличивает их жизнеспособность [30]. Боковой амиотрофический склероз связан с митохондриальной дисфункцией, что может быть смоделировано в культуре нейронов с экспрессией мутантного гена СОД1 G93A. Мутантный ген СОД1 вызывает митохондриальную дисфункцию и апоптоз нейронов, который ингибируется при сверхэкспрессии SIRT3 и PGC1 $\alpha$  – фактора транскрипции, регулирующего экспрессию SIRT3 [82].

Таким образом, SIRT3, регулируя синтез FOXO3, PGC1 $\alpha$ , PACAP, каталазы и СОД, препятствует развитию ряда ассоциированных с возрастом патологий: сахарного диабета, метаболического синдрома, кардиоваскулярной дисфункции, рака и нейродегенеративных заболеваний (рис. 2).

#### СИРТУИН 4: ГЕРОПРОТЕКТОР ИЛИ БЕЛОК, УСКОРЯЮЩИЙ СТАРЕНИЕ?

Данные о роли SIRT4 в процессах старения носят противоречивый характер. Имеются данные, что у *Drosophila melanogaster* с нокаутом гена *Sirt4*, снижается продолжительность жизни, повышается чувствительность к голоданию, снижается фертильность, гликолиз, метаболизм аминокислот с разветвленной цепью и катаболизм жирных кислот. У дрозофил со сверхэкспрессией *Sirt4* наблюдалось увеличение продолжительности жизни [94]. По другим данным нокаут гена *Sirt4* у *Drosophila melanogaster* приводит к сокращению продолжительности жизни и нарушению двигательной функции [75].

При этом имеются данные о роли SIRT4 в формировании фенотипа, ассоциированного со старением (SASP) в коже. Ультрафиолетовое излучение, стимулирующее ускоренное старение клеток дермы, активирует экспрессию *Sirt4*. SIRT4 инги-



**Рис. 2.** Геропротекторные эффекты SIRT3. Стрелками обозначена положительная регуляция, горизонтальной чертой – отрицательная регуляция.

бирует активацию СОД2 [61], что может способствовать формированию SASP посредством увеличения генерации АФК. Установлено, что при воздействии ультрафиолетового излучения на дермальные фибробласты человека в них повышается уровень мРНК и белка SIRT4, который ингибирует микроРНК-15b, что приводит к формированию SASP [51]. Также показано, что SIRT4 может повышать синтез АФК в кардиомиоцитах мышей [61].

В культурах эндотелия сосудов сверхэкспрессия SIRT4 ингибировала ядерную транслокацию NF-κB, которая запускает экспрессию провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и молекулы адгезии ICAM-1 [87]. Таким образом, SIRT4 может обладать антиатеросклеротическими и противовоспалительными свойствами.

Отмечается, что SIRT4 является опухолевым супрессором, что объясняется его способностью регулировать митохондриальный метаболизм при онкогенезе [64]. Уровни мРНК *Sirt4* были снижены при раке легких, поджелудочной железы, яичников, желудка, кишечника, предстательной железы, почек, печени и эндометрия, при гематологических опухолях. Более низкие уровни экспрессии *Sirt4* в опухолевых тканях часто связаны со снижением выживаемости у онкологических больных [89].

SIRT4 способствует повышению продолжительности жизни у дрозофилы, но активирует фенотип, ассоциированный со старением, в фибробластах кожи человека. Эти противоречивые

данные требуют проведения дополнительных исследований, детализирующих молекулярный механизм действия SIRT4. Кроме того, SIRT4 нормализует митохондриальный метаболизм, что выражается в его онкостатическом эффекте, и регулирует синтез цитокинов.

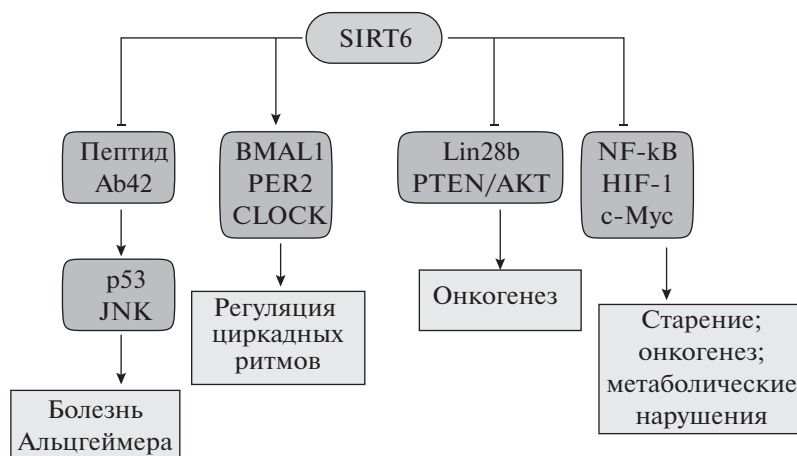
### ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 5

SIRT5 обладает нейропротекторными свойствами, замедляя развитие эпилепсии и ассоциированной с возрастом болезни Паркинсона. Дефицит SIRT5 вызывает реактивный астроглиоз, усугубляет потерю нейронов и дегенерацию гиппокампа, повышает тяжесть эпилептических припадков и увеличивает смертность у мышей при моделировании эпилепсии [80]. Экспрессия митохондриального SIRT5 повышается при повреждении гиппокампа. Это указывает на способность SIRT5 повышать выживаемость клеток гиппокампа [53]. У мышей с нокаутом гена *Sirt5* при моделировании БП наблюдалась более тяжелая nigrostriatalная дофаминергическая дегенерация, чем у животных без мутации в этом гене. Делеция гена *Sirt5* у мышей с БП приводит к снижению синтеза СОД2. Эти данные показывают, что SIRT5 замедляет nigrostriatalную дофаминергическую дегенерацию за счет сохранения поддержания функций антиоксидантной системы нейронов [57].

### ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 6

SIRT6 – гистоновая деацетилаза, мишенями которой являются ацетилированные остатки лизина K9, K56 и K18 (H3K9ac, H3K56ac и H3K18ac) в гистоне H3. Деацетилирование этих аминокислотных остатков с участием SIRT6 необходимо для уплотнения хроматина, репрессии транскрипции и регуляции репарации ДНК. SIRT6 действует как ко-репрессор нескольких факторов транскрипции NF-κB, HIF-1, c-Myc, замедляющих старение, предотвращающих канцерогенез и регулирующих метаболизм. SIRT6 способствует ремоделированию хроматина, необходимому для репарации ДНК и поддержанию структуры теломер для предотвращения геномной нестабильности и клеточного старения [49].

Гиперэкспрессия SIRT6 приводит к увеличению продолжительности жизни самцов мышей [40]. У мышей с нарушением синтеза SIRT6 развивается прогерия и смерть наступает через 4 недели после рождения. Это связано с нестабильностью клеточного генома и системными метаболическими дефектами [66]. Эмбриональные стволовые клетки человека (hESCs) с нарушением экспрессии *Sirt6*, дифференцированные в мезенхимальные



**Рис. 3.** Геропротекторные эффекты SIRT6. Стрелками обозначена положительная регуляция, горизонтальной чертой – отрицательная регуляция.

стволовые клетки (hMSCs), имели повышенную чувствительность к окислительному стрессу и проявляли признаки ускоренного клеточного старения [73]. Авторы предполагают, что SIRT6 положительно модулирует регулируемый фактором транскрипции NRF2 и гемоксигеназой-1 антиоксидантный путь в hMSC.

Имеются данные об участии SIRT6 в регуляции циркадных ритмов [62] и его способности подавлять рост опухолей [49]. SIRT6 взаимодействует с белком BMAL1, регулирующим экспрессию циркадных генов и участвующем в ремоделировании хроматина. Также SIRT6 взаимодействует с деацетилированной формой белка PER2, предотвращая ее деградацию [83]. В другом исследовании показано, что SIRT6 взаимодействует с белками CLOCK и BMAL1, регулирующими циркадные ритмы, и белком SREBP-1, регулирующим периодичность метаболизма жирных кислот [62]. Таким образом, геропротекторные эффекты SIRT6 могут реализовываться через регуляцию экспрессии циркадных генов, вовлеченных в поддержание метаболизма.

Установлено, что SIRT6 подавляет рост карциномы поджелудочной железы. Нарушение экспрессии SIRT6 приводит к гиперацетилированию промотора гена гистона Lin28b, активации гена Muc и положительной регуляции синтеза белков HMGA2, IGF2BP1, IGF2BP3, экспрессируемых при росте и метастазировании карциномы поджелудочной железы [50]. SIRT6 подавляет экспрессию генов, вовлеченных в развитие колоректального рака путем модуляции сигнального каскада PTEN/AKT, что может иметь важное значение для разработки новых методов терапии этой патологии [88].

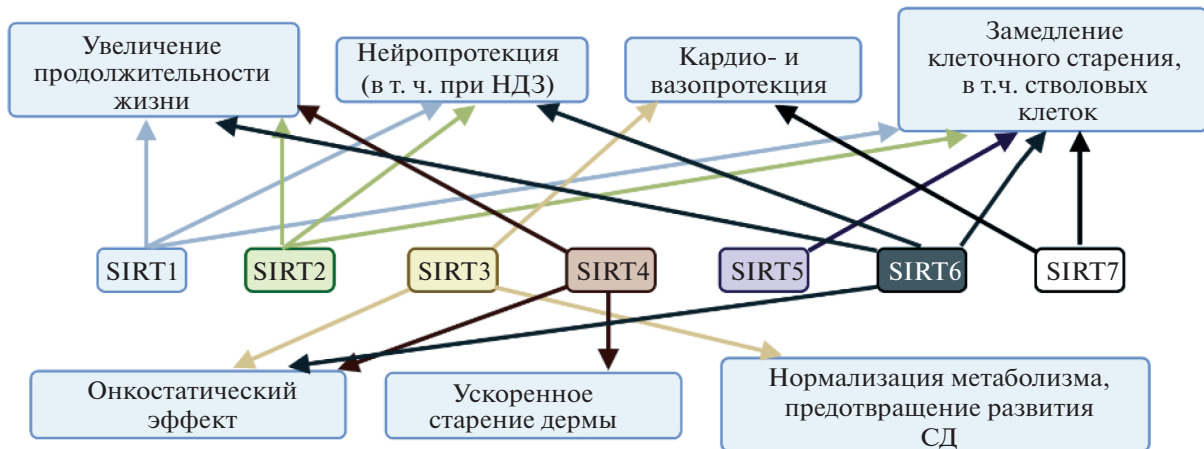
Высокий уровень экспрессии SIRT6 выявлен в нейронах головного мозга млекопитающих [11]. С возрастом отмечено снижение этого показате-

ля [9]. У мышей с нокаутом гена *Sirt6* выявлены дефекты передачи нервных импульсов в сетчатке, связанные со снижением количества ионотропных и метаболитических рецепторов глутамата [81]. В головном мозге пациентов и мышей с БА экспрессия SIRT6 снижается. Амилоидные бляшки, образованные конъюгатами пептида Aβ42, подавляли синтез SIRT6 в нейронах коры головного мозга мышей с БА, а также в линии нейронов гиппокампа мыши HT22. Это сопровождалось ацетилированием гистонов H3K9 и H3K56. Пептид Aβ42 в клетках линии HT22 подавлял экспрессию SIRT6 при участии JNK-киназы и белка p53 [37]. Снижение синтеза SIRT6 в головном мозге у мышей с делецией в гене *Sirt6* приводит к гиперфосфорилированию τ-белка, что также является одним из звеньев патогенеза БА [39, 86].

Таким образом, SIRT6 обладает наиболее широким спектром геропротекторных эффектов среди семейства сиртуинов. SIRT6 регулирует активность циркадных генов, замедляет процесс клеточного старения (в том числе старения стволовых клеток человека), обладает онкостатическим и нейропротекторным действием, регулирует метаболизм и способствует увеличению продолжительности жизни (рис. 3).

### ГЕРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА СИРТУИНА 7

SIRT7 является регулятором синтеза рРНК и участвует в поддержании клеточного гомеостаза. Белки p53, H3K18, PAF53, NPM1, GABP-β1 являются субстратами деацетилазной активности SIRT7 [45]. SIRT7 способствует выживанию клеток в условиях стресса, в том числе и при старении, за счет регуляции синтеза HIF-1 и IRE1α [35]. Повышенная нестабильность рДНК – фенотип, связанный со старением у человека. Являясь



**Рис. 4.** Схема геропротекторных эффектов сиртуинов и их потенциальной роли в терапии ассоциированных с возрастом заболеваний. Сокращения: НДЗ – нейродегенеративные заболевания, СД – сахарный диабет.

единственным сиртуином, который в основном расположен в ядрышках, SIRT7 противодействует старению hMSCs, поддерживая стабильность рДНК в областях гетерохроматина [74]. SIRT7 подавляет ретротранспозоны LINE1, регулирует экспрессию кластеров генов рДНК в регионах гетерохроматина, и способствует выживаемости гемопоэтических стволовых клеток [65]. SIRT7 обладает кардиопротекторным действием, участвуя в деацетилировании GATA4 в кардиомиоцитах [97]. Таким образом, SIRT7 играет важную роль в замедлении клеточного старения, поддержания пула стволовых клеток и кардиопротекции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сиртуины играют ключевую роль в обеспечении антиоксидантной защиты, регуляции синтеза АФК и репарации ДНК. Предотвращение окислительного стресса способствует замедлению клеточного старения и поддержанию пула стволовых клеток. Геропротекторные свойства SIRT1,2,3,6,7, реализуемые через различные сигнальные клеточные каскады, подробно описаны в литературе. В отношении SIRT4 в настоящее время нет единого мнения, обладает ли он геропротекторным действием или ускоряет старение. SIRT5 остается недостаточно изученным, хотя имеются данные о его нейропротекторной активности и антиоксидантных свойствах, что позволяет рассматривать этот белок в качестве потенциального геропротектора. Предполагается, что сиртуины человека являются потенциальными мишенями для терапии различных заболеваний, ассоциируемых с возрастом: сердечно-сосудистой системы (гипертония и сердечная недостаточность), нервной системы (БА, БП), обменных нарушений (диабет второго типа, метаболический синдром), онкопатологии (рис. 4).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пухальская А.Э., Дятлова А.С., Линькова Н.С. и др. Сиртуины как возможные предикторы старения и развития болезни Альцгеймера: верификация в гиппокампе и слюне // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 169. № 6. С. 769–772.
2. Пухальская А.Э., Дятлова А.С., Линькова Н.С., Кветной И.М. Сиртуины: роль в регуляции окислительного стресса и патогенезе нейродегенеративных заболеваний // Успехи физиологических наук. 2021. Т. 52. № 1. С. 90–104.
3. Ahn B.H., Kim H.S., Song S. et al. A role for the mitochondrial deacetylase Sirt3 in regulating energy homeostasis // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105(38). P. 14447–14452. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803790105>
4. Almeida M., Porter R.M. Sirtuins and FoxOs in osteoporosis and osteoarthritis // Bone. 2019. V. 121. P. 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.01.018>
5. Anwar T., Khosla S., Ramakrishna G. Increased expression of SIRT2 is a novel marker of cellular senescence and is dependent on wild type p53 status // Cell Cycle. 2016. V. 15(14). P. 1883–1897. <https://doi.org/10.1080/15384101.2016.1189041>
6. Bai H., Post S., Kang P., Tatar M. Drosophila longevity assurance conferred by reduced insulin receptor substrate chico partially requires d4eBP // PLoS One. 2015. V. 10: e0134415. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134415>
7. Benigni A., Cassis P., Conti S. et al. Sirt3 Deficiency shortens life span and impairs cardiac mitochondrial function rescued by Opa1 gene transfer // Antioxid. Redox. Signal. 2019. V. 31(17). P. 1255–1271. <https://doi.org/10.1089/ars.2018.7703>
8. Braidyn 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>

9. *Braidy N., Poljak A., Grant R. et al.* Differential expression of sirtuins in the aging rat brain // *Front. Cell. Neurosci.* 2015. V. 9. P. 167.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00167>
10. *Brunet A., Sweeney L.B., Sturpill J.F. et al.* Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase // *Science.* 2004. V. 303(5666). P. 2011–2015.  
<https://doi.org/10.1126/science.1094637>
11. *Burkewitz K., Zhang Y.E., Mair W.B.* AMPK at the nexus of energetics and aging // *Cell Metab.* 2014. V. 20. P. 10–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.03.002>
12. *Burnett C., Valentini S., Cabreiro F. et al.* Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila* // *Nature.* 2011. V. 477. P. 482–485.  
<https://doi.org/10.1038/nature10296>
13. *Cardinale A., de Stefano M.C., Mollinari C. et al.* Biochemical characterization of sirtuin 6 in the brain and its involvement in oxidative stress response // *Neurochem. Res.* 2015. V. 40(1). P. 59–69.  
<https://doi.org/10.1007/s11064-014-1465-1>
14. *Chen C., Zhou M., Ge Y., Wang X.* SIRT1 and aging related signaling pathways // *Mech. Ageing Dev.* 2020. V. 187:111215.  
<https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111215>
15. *Cho S.H., Chen J.A., Sayed F. et al.* SIRT1 deficiency in microglia contributes to cognitive decline in aging and neurodegeneration via epigenetic regulation of IL-1 beta // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. P. 807–818.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2939-14.2015>
16. *D'Onofrio N., Vitiello M., Casale R. et al.* Sirtuins in vascular diseases: emerging roles and therapeutic potential // *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. V. 1852(7). P. 1311–1322.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.03.001>
17. *Dang W.* The controversial world of sirtuins // *Drug Discov Today Technol.* 2014. V. 12: e9–e17.  
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2012.08.003>
18. *Deprez M.A., Eskes E., Winderickx J., Wilms T.* The TORC1–Sch9 pathway as a crucial mediator of chronological lifespan in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Yeast Res.* 2018. V. 18:18.  
<https://doi.org/10.1093/femsyr/foy048>
19. *Donato A.J., Magerko K.A., Lawson B.R. et al.* SIRT1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans // *J. Physiol.* 2011. V. 589. P. 4545–4554.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.211219>
20. *Du J., Zhou Y., Su X. et al.* Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase // *Science.* 2011. V. 334. P. 806–809.  
<https://doi.org/10.1126/science.1207861>
21. *Edwards J.R., Perrien D.S., Fleming N. et al.* Silent information regulator (Sir)T1 inhibits NF- $\kappa$ B signaling to maintain normal skeletal remodeling // *J. Bone Miner. Res.* 2013. V. 28 (4). P. 960–969.  
<https://doi.org/10.1002/jbmr.1824>
22. *Fang E.F., Lautrup S., Hou Y.J. et al.* NAD<sup>+</sup> in aging: molecular mechanisms and translational implications // *Trends Mol. Med.* 2017. V. 23. P. 899–916.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.08.001>
23. *Finley L.W., Carracedo A., Lee J. et al.* SIRT3 opposes reprogramming of cancer cell metabolism through HIF1 $\alpha$  destabilization // *Cancer Cell.* 2011. V. 19(3). P. 416–428.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.02.014>
24. *Frye R.A.* Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. V. 273(2). P. 793–798.  
<https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3000>
25. *García-Aguilar A., Guillén C., Nellist M. et al.* TSC2 N-terminal lysine acetylation status affects its stability modulating mTORC1 signaling and autophagy // *Biochim. Biophys. Acta.* 2016. V. 1863(11). P. 2658–2667.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.08.006>
26. *Ghosh H.S., McBurney M., Robbins P.D.* SIRT1 negatively regulates the mammalian target of rapamycin // *PLoS One.* 2010. V. 5(2):e9199.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009199>
27. *Guo J., Shao M., Lu F. et al.* Role of SIRT1 plays in nucleus pulposus cells and intervertebral disc degeneration // *Spine (Phila Pa 1976).* 2017. V. 49(13): E757–E766.  
<https://doi.org/10.1097/BRS.0000000000001954>
28. *Haigis M.C., Guarente L.P.* Mammalian sirtuins—emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction // *Genes Dev.* 2006. V. 20. P. 2913–2921.  
<https://doi.org/10.1101/gad.1467506>
29. *Haigis M.C., Mostoslavsky R., Haigis K.M. et al.* SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells // *Cell.* 2006. V. 126. P. 941–954.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.057>
30. *Han P., Tang Z., Yin J. et al.* Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide protects against  $\beta$ -amyloid toxicity // *Neurobiol. Aging.* 2014. V. 35(9). P. 2064–2071.  
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.022>
31. *Hirschey M.D., Shimazu T., Jing E. et al.* SIRT3 deficiency and mitochondrial protein hyperacetylation accelerate the development of the metabolic syndrome // *Mol. Cell.* 2011. V. 44(2). P. 177–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.07.019>
32. *Hirschey M.D., Shimazu T., Goetzman E. et al.* SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation // *Nature.* 2010. V. 464(7285). P. 121–125.  
<https://doi.org/10.1038/nature08778>
33. *Hori Y.S., Kuno A., Hosoda R., Horio Y.* Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 modulators under oxidative stress // *PLoS One.* 2013. V. 8(9): e73875.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073875>
34. *Houtkooper R.H., Pirinen E., Auwerx J.* Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012. V. 13. P. 225–238.  
<https://doi.org/10.1038/nrm3293>
35. *Hubbi M.E., Hu H., Kshitz et al.* Sirtuin-7 inhibits the activity of hypoxia-inducible factors // *J Biol Chem.* 2013. V. 288(29). P. 20768–20775.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.476903>
36. *Jeon S.M.* Regulation and function of AMPK in physiology and diseases // *Exp. Mol. Med.* 2016. V. 48:e245.  
<https://doi.org/10.1038/emm.2016.81>



37. Jung E.S., Choi H., Song H. et al. p53-dependent SIRT6 expression protects A $\beta$ 42-induced DNA damage // *Sci. Rep.* 2016. V. 6: 25628. <https://doi.org/10.1038/srep25628>
38. Kaeberlein M., McVey M., Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms // *Genes Dev.* 1999. V. 13(19). P. 2570–2580. <https://doi.org/10.1101/gad.13.19.2570>
39. Kaluski S., Portillo M., Besnard A. et al. Neuroprotective Functions for the Histone Deacetylase SIRT6 // *Cell Rep.* 2017. V. 18(13). P. 3052–3062. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.03.008>
40. Kanfi Y., Naiman S., Amir G. et al. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice // *Nature.* 2012. V. 483(7388). P. 218–221. <https://doi.org/10.1038/nature10815>
41. Kao C.L., Chen L.K., Chang Y.L. et al. Resveratrol protects human endothelium from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress and senescence via SIRT1 activation // *J. Atheroscler. Thromb.* 2010. V. 17. P. 970–979. <https://doi.org/10.5551/jat.4333>
42. Kendrick A.A., Choudhury M., Rahman S.M. et al. Fatty liver is associated with reduced SIRT3 activity and mitochondrial protein hyperacetylation // *Biochem. J.* 2011. V. 433(3). P. 505–514. <https://doi.org/10.1042/BJ20100791>
43. Kennedy B.K., Gotta M., Sinclair D.A. et al. Redistribution of silencing proteins from telomeres to the nucleolus is associated with extension of life span in *S. cerevisiae* // *Cell.* 1997. V. 89(3). P. 381–391. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80219-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80219-6)
44. Kim M., Lee J.S., Oh J.E. et al. SIRT3 Overexpression Attenuates Palmitate-Induced Pancreatic  $\beta$ -Cell Dysfunction // *PLoS One.* 2015. V. 10(4):e0124744. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124744>
45. Kiran S., Anwar T., Kiran M., Ramakrishna G. Sirtuin 7 in cell proliferation, stress and disease: Rise of the Seventh Sirtuin! *Cell Signal* // 2015. V. 27(3). P. 673–682. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.11.026>
46. Kitada M., Ogura Y., Koya D. The protective role of SIRT1 in vascular tissue: its relationship to vascular aging and atherosclerosis // *Aging (Albany NY).* 2016. V. 8(10). P. 2290–2307. <https://doi.org/10.18632/aging.101068>
47. Kitada M., Ogura Y., Monno I., Koya D. Sirtuins and type 2 diabetes: role in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2019. V. 10:187. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00187>
48. Klein MA, Denu J.M. Biological and catalytic functions of sirtuin 6 as targets for small-molecule modulators // *J. Biol. Chem.* 2020. V. 295(32). P. 11021–11041. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011438>
49. Kugel S., Mostoslavsky R. Chromatin and beyond: the multitasking roles for SIRT6 // *Trends Biochem. Sci.* 2014. V. 39(2). P. 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.12.002>
50. Kugel S., Sebastián C., Fitamant J. et al. SIRT6 Suppresses Pancreatic Cancer through Control of Lin28b // *Cell.* 2016. V. 165(6). P. 1401–1415. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.033>
51. Lang A., Grether-Beck S., Singh M. et al. MicroRNA-15b regulates mitochondrial ROS production and the senescence-associated secretory phenotype through sirtuin 4/SIRT4 // *Aging (Albany NY).* 2016. V. 8(3). P. 484–505. <https://doi.org/10.18632/aging.100905>
52. Lanza I.R., Short D.K., Short K.R. et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging // *Diabetes.* 2008. V. 57(11). P. 2933–2942. <https://doi.org/10.2337/db08-0349>
53. Li F., Liu L. SIRT5 Deficiency Enhances Susceptibility to Kainate-Induced Seizures and Exacerbates Hippocampal Neurodegeneration not through Mitochondrial Antioxidant Enzyme SOD2 // *Front. Cell Neurosci.* 2016. V. 10: 171. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00171>
54. Lim C.J., Lee Y.M., Kang S.G. et al. Aquatide activation of SIRT1 reduces cellular senescence through a SIRT1-FOXO1-autophagy axis // *Biomol. Ther. (Seoul).* 2017. V. 25 (5). P. 511–518. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2017.119>
55. Lin C.H., Chen J., Ziman B. et al. Endostatin and kidney fibrosis in aging: a case for antagonistic pleiotropy? // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014. V. 306(12): H1692–H1699. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00064.2014>
56. Liszt G., Ford E., Kurtev M., Guarente L. Mouse Sir2 homolog SIRT6 is a nuclear ADP-ribosyltransferase // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. P. 21313–21320. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413296200>
57. Liu L., Peritore C., Ginsberg J. et al. Protective role of SIRT5 against motor deficit and dopaminergic degeneration in MPTP-induced mice model of Parkinson's disease // *Behav. Brain Res.* 2015. V. 281. P. 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.035>
58. Lombard D.B., Zwaans B.M. SIRT3: as simple as it seems? // *Gerontology.* 2014. V. 60(1). P. 56–64. <https://doi.org/10.1159/000354382>
59. Luo H., Mu W.C., Karki R. et al. Mitochondrial stress-initiated aberrant activation of the NLRP3 inflammasome regulates the functional deterioration of hematopoietic stem cell aging // *Cell Rep.* 2019. V. 26. P. 945–954. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.101>
60. Luo X.Y., Qu S.L., Tang Z.H. et al. SIRT1 in cardiovascular aging // *Clin. Chim. Acta.* 2014. V. 437. P. 106–114. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.07.019>
61. Luo Y.X., Tang X., An X.Z. et al. SIRT4 accelerates Ang II-induced pathological cardiac hypertrophy by inhibiting manganese superoxide dismutase activity // *Eur. Heart J.* 2017. V. 38(18). P. 1389–1398. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw138>
62. Masri S., Rigor P., Cervantes M. et al. Partitioning circadian transcription by SIRT6 leads to segregated control of cellular metabolism // *Cell.* 2014. V. 158(3). P. 659–672. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.050>
63. McDonnell E., Peterson B.S., Bomze H.M., Hirschey M.D. SIRT3 regulates progression and development of diseases of aging // *Trends Endocrinol. Metab.* 2015. V. 26(9). P. 486–492. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.06.001>
64. Min Z., Gao J., Yu Y. The Roles of Mitochondrial SIRT4 in Cellular Metabolism // *Front. Endocrinol.*

- (Lausanne). 2019. V. 9. P. 783.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00783>
65. *Mohrin M., Shin J., Liu Y. et al.* Stem cell aging. A mitochondrial UPR-mediated metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell aging // *Science*. 2015. V. 347(6228). P. 1374–1377.  
<https://doi.org/10.1126/science.aaa2361>
  66. *Mostoslavsky R., Chua K.F., Lombard D.B. et al.* Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6 // *Cell*. 2006. V. 124(2). P. 315–329.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.11.044>
  67. *Motta M.C., Divecha N., Lemieux M. et al.* Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors // *Cell*. 2004. Vol. 116. P. 551–563.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00126-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00126-6)
  68. *Nogueiras R., Habegger K.M., Chaudhary N. et al.* Sirtuin 1 and sirtuin 3: physiological modulators of metabolism // *Physiol Rev*. 2012. V. 92(3). P. 1479–1514.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2011>
  69. *North B.J., Rosenberg M.A., Jeganathan K.B. et al.* SIRT2 induces the checkpoint kinase BubR1 to increase lifespan // *EMBO J*. 2014. V. 33(13). P. 1438–1453.  
<https://doi.org/10.15252/embj.201386907>
  70. *O'Callaghan C., Vassilopoulos A.* Sirtuins at the crossroads of stemness, aging, and cancer // *Aging Cell*. 2017. V. 16(6). P. 1208–1218.  
<https://doi.org/10.1111/acel.12685>
  71. *O'Callaghan C., Vassilopoulos A.* Sirtuins at the crossroads of stemness, aging, and cancer // *Aging Cell*. 2017. V. 16(6). P. 1208–1218.  
<https://doi.org/10.1111/acel.12685>
  72. *Ou X., Lee M.R., Huang X. et al.* SIRT1 positively regulates autophagy and mitochondria function in embryonic stem cells under oxidative stress // *Stem Cells*. 2014. V. 32. P. 1183–1194.  
<https://doi.org/10.1002/stem.1641>
  73. *Pan H., Guan D., Liu X. et al.* SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2 // *Cell Res*. 2016. V. 26(2). P. 190–205.  
<https://doi.org/10.1038/cr.2016.4>
  74. *Paredes S., Angulo-Ibanez M., Tasselli L. et al.* The epigenetic regulator SIRT7 guards against mammalian cellular senescence induced by ribosomal DNA instability // *J. Biol. Chem*. 2018. V. 293(28). P. 11242–11250.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.AC118.003325>
  75. *Parik S., Tewary S., Ayyub C., Kolthur-Seetharam U.* Loss of mitochondrial SIRT4 shortens lifespan and leads to a decline in physical activity // *J. Biosci*. 2018. V. 43(2). P. 243–247.
  76. *Park J., Chen Y., Tishkoff D.X. et al.* SIRT5-mediated lysine desuccinylation impacts diverse metabolic pathways // *Mol. Cell*. 2013. V. 50. P. 919–930.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.06.001>
  77. *Paulin R., Dromparis P., Sutendra G. et al.* Sirtuin 3 deficiency is associated with inhibited mitochondrial function and pulmonary arterial hypertension in rodents and humans // *Cell Metab*. 2014. V. 20(5). P. 827–839.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.08.011>
  78. *Salminen A., Kaarniranta K., Kauppinen A.* Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process // *Int. J. Mol. Sci*. 2013. V. 14(2). P. 3834–3859.  
<https://doi.org/10.3390/ijms14023834>
  79. *Satoh A., Brace C.S., Rensing N. et al.* SIRT1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH // *Cell Metab*. 2013. V. 18. P. 416–430.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.07.013>
  80. *Shih J., Liu L., Mason A., Higashimori H., Donmez G.* Loss of SIRT4 decreases GLT-1-dependent glutamate uptake and increases sensitivity to kainic acid // *J Neurochem*. 2014. V. 131(5). P. 573–581.  
<https://doi.org/10.1111/jnc.12942>
  81. *Silberman D.M., Ross K., Sande P.H. et al.* SIRT6 is required for normal retinal function // *PLoS One*. 2014. V. 9(6):e98831.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098831>
  82. *Song W., Song Y., Kincaid B. et al.* Mutant SOD1G93A triggers mitochondrial fragmentation in spinal cord motor neurons: neuroprotection by SIRT3 and PGC-1 $\alpha$  // *Neurobiol. Dis*. 2013. V. 51. P. 72–81.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.07.004>
  83. *Sun S., Liu Z., Feng Y. et al.* Sirt6 deacetylase activity regulates circadian rhythms via Per2 // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2019. V. 511(2). P. 234–238.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.01.143>
  84. *Sundaresan N.R., Gupta M., Kim G. et al.* Sirt3 blocks the cardiac hypertrophic response by augmenting Foxo3a-dependent antioxidant defense mechanisms in mice // *J. Clin. Invest*. 2009. V. 119(9). P. 2758–2771.  
<https://doi.org/10.1172/JCI139162>
  85. *Sung B., Chung J.W., Bae H.R. et al.* Humulus japonicus extract exhibits antioxidative and anti-aging effects via modulation of the AMPK-SIRT1 pathway // *Exp. Ther. Med*. 2015. V. 9(5). P. 1819–1826.  
<https://doi.org/10.3892/etm.2015.2302>
  86. *Tang B.L.* Is SIRT6 Activity Neuroprotective and How Does It Differ from SIRT1 in This Regard? // *Front Cell Neurosci*. 2017. V. 11:165.  
<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00165>
  87. *Tao Y., Huang C., Huang Y. et al.* SIRT4 Suppresses Inflammatory Responses in Human Umbilical Vein Endothelial Cells // *Cardiovasc. Toxicol*. 2015. V. 15(3). P. 217–223.  
<https://doi.org/10.1007/s12012-014-9287-6>
  88. *Tian J., Yuan L.* Sirtuin 6 inhibits colon cancer progression by modulating PTEN/AKT signaling // *Biomed Pharmacother*. 2018. V. 106. P. 109–116.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.070>
  89. *Tomaselli D., Steegborn C., Mai A., Rotili D.* Sirt4: A Multifaceted Enzyme at the Crossroads of Mitochondrial Metabolism and Cancer // *Front Oncol*. 2020. V. 10. P. 474.  
<https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00474>
  90. *van de Ven R.A.H., Santos D., Haigis M.C.* Mitochondrial Sirtuins and Molecular Mechanisms of Aging // *Trends Mol Med*. 2017. V. 23(4). P. 320–331.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.02.005>
  91. *Vaziri H., Dessain S.K., Ng Eaton E. et al.* HSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase // *Cell*. 2001. V. 107(2). P. 149–159.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00527-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00527-x)
  92. *Wang N., Luo Z., Jin M. et al.* Exploration of age-related mitochondrial dysfunction and the anti-aging effects of

- resveratrol in zebrafish retina // *Aging* (Albany NY). 2019. V. 11 (10). P. 3117–3137.  
<https://doi.org/10.18632/aging.101966>
93. Wang Y., Yang J., Hong T. et al. SIRT2: Controversy and multiple roles in disease and physiology // *Ageing Research Reviews*. 2019. P. 100961.  
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100961>
94. Wood J.G., Schwer B., Wickremesinghe P.C. et al. Sirt4 is a mitochondrial regulator of metabolism and lifespan in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018. V. 115(7). P. 1564–1569.  
<https://doi.org/10.1093/geroni/igy023.345>
95. Wu J.J., Liu J., Chen E.B. et al. Increased mammalian lifespan and a segmental and tissue-specific slowing of aging after genetic reduction of mTOR expression // *Cell Rep*. 2013. V. 4. P. 913–920.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.07.030>
96. Xu D., Jiang X., He H. et al. SIRT2 functions in aging, autophagy, and apoptosis in post-maturation bovine oocytes // *Life Sci*. 2019. V. 232: 116639.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116639>
97. Yamamura S., Izumiya Y., Araki S. et al. Cardiomyocyte Sirt (Sirtuin) 7 Ameliorates Stress-Induced Cardiac Hypertrophy by Interacting With and Deacetylating GATA4 // *Hypertension*. 2020. V. 75(1). P. 98–108.  
<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONA-HA.119.13357>
98. Yang B., Fu X., Shao L. et al. Aberrant expression of SIRT3 is conversely correlated with the progression and prognosis of human gastric cancer // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2014. V. 443(1). P. 156–160.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.11.068>
99. Yang M., Peng Y., Liu W. et al. Sirtuin 2 expression suppresses oxidative stress and senescence of nucleus pulposus cells through inhibition of the p53/p21 pathway // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2019. V. 513(3). P. 616–622.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.03.200>
100. Yeung F., Hoberg J.E., Ramsey C.S. et al. Modulation of NF-kappa B- dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase // *EMBO J*. 2004. V. 23(12). P. 2369–2380.  
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600244>
101. You W., Rotili D., Li T.M. et al. Structural Basis of Sirtuin 6 Activation by Synthetic Small Molecules // *Angew Chem Int Ed Engl*. 2017. V. 56(4). P. 1007–1011.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201610082>
102. Zarzuelo M.J., López-Sepúlveda R., Sánchez M. et al. SIRT1 inhibits NADPH oxidase activation and protects endothelial function in the rat aorta: implications for vascular aging // *Biochem. Pharmacol*. 2013. V. 85(9). P. 1288–1296.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.02.015>
103. Zeng L., Yang Y., Hu Y. et al. Age-related decrease in the mitochondrial sirtuin deacetylase Sirt3 expression associated with ROS accumulation in the auditory cortex of the mimetic aging rat model // *PLoS One*. 2014. V. 9(2): e88019.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088019>
104. Zhang C.Z., Liu L., Cai M. et al. Low SIRT3 expression correlates with poor differentiation and unfavorable prognosis in primary hepatocellular carcinoma // *PLoS One*. 2012. V. 7(12): e51703.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051703>
105. Zhang H., Yang X., Pang X. et al. Genistein protects against ox- LDL-induced senescence through enhancing SIRT1/LKB1/AMPK- mediated autophagy flux in HUVECs // *Mol. Cell. Biochem*. 2019. V. 455(1–2). P. 127–134.  
<https://doi.org/10.1007/s11010-018-3476-8>
106. Zhang Y., Mi S.L., Hu N. et al. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 accentuates aging-induced cardiac remodeling and contractile dysfunction: role of AMPK, SIRT1, and mitochondrial function // *Free Radic. Biol. Med*. 2014. V. 71. P. 208–220.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.018>

## Sirtuins and Aging

A. E. Pukhalskaia<sup>1</sup>, I. M. Kvetnoy<sup>2, 3</sup>, N. S. Linkova<sup>1, 4, 5, \*</sup>, A. S. Diatlova<sup>1</sup>,  
 E. O. Gutop<sup>1</sup>, K. L. Kozlov<sup>1</sup>, and M. A. Paltsev<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Saint-Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, 197110 Russia

<sup>2</sup> Department of Pathology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

<sup>3</sup> St. Petersburg Scientific Research Institute of Phthisiopulmonology, St. Petersburg, 191036 Russia

<sup>4</sup> Department of Therapy, Geriatrics and Anti-Aging Medicine, Academy of Postgraduate Education, Moscow, 125371 Russia

<sup>5</sup> Department of Biomedical Sciences, Belgorod State University, Belgorod, 308015 Russia

<sup>6</sup> The Center of Immunology and Molecular Biomedicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

\*e-mail: miayy@yandex.ru

**Abstract**—Sirtuins (SIRT) involve in DNA repair, chromatin remodeling, epigenetic regulation of metabolism, antioxidant system, apoptosis, immune- and neurogenesis, and others genes expression regulation. The goal of the review is to analyze the geroprotective properties of sirtuins during chronological aging and age-related pathology. SIRT1,2,3,4,6 promote longevity. SIRT1,2,6,7 slow down cell aging and support stem cells pool. Sirtuins are the potential targets for therapy of neurodegenerative, oncology, cardiovascular diseases, metabolic syndrome, and diabetes mellitus. All these diseases in the majority of the causes are characterized in elderly and old people. Thus, geroprotective sirtuins effects, which realized on molecular and cellular levels, can play the important role in its therapy.

**Keywords:** sirtuins, cell aging, geroprotection, age-related diseases

УДК 57.025+57.045+537.63

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОСЛАБЛЕННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ ЗЕМЛИ

© 2022 г. Б. Ф. Щеголев<sup>а</sup>, С. В. Сурма<sup>а</sup>, В. Е. Стефанов<sup>б</sup>, М. Б. Павлова<sup>а, \*</sup>, Н. В. Ширяева<sup>а</sup>, Т. Г. Зачепило<sup>а</sup>, Н. Г. Лопатина<sup>а</sup>

<sup>а</sup> ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

<sup>б</sup> ФГБУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

\*e-mail: pavlova@infran.ru

Поступила в редакцию 08.08.2021 г.

После доработки 20.08.2021 г.

Принята к публикации 10.09.2021 г.

В статье обобщены результаты собственных исследований воздействия ослабленного посредством экранирования магнитного поля Земли (ОМПЗ) на широкий спектр поведенческих, физиологических и молекулярно-клеточных характеристик у насекомых (дрозофила, медоносная пчела) и млекопитающих (крыса), а также приведены данные литературы о воздействии ОМПЗ на клеточные культуры грызунов и человека. Выявлен специфический для ОМПЗ тормозящий, усиливающий тормозную функцию нервной системы эффект воздействия. Характер влияния зависит от генетически детерминированных нейрофизиологических и биохимических характеристик биологического объекта.

**Ключевые слова:** геомагнитное поле, магнитное экранирование, магнитобиологические эффекты (МБЭ), стресс, кровь, гемодинамические показатели, обучение и память, ориентировочно-исследовательская активность, возбудимость, клеточные культуры, дрозофила, пчела, крысы

**DOI:** 10.31857/S0301179822010076

### ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных физических факторов, определяющих все элементы жизнедеятельности живых организмов на Земле, является магнитное поле Земли (МПЗ). Его изменения приводят к сбою в работе эндогенных механизмов, в том числе отсчитывающих время, управляющих деятельностью ЦНС, целого ряда внутриклеточных биохимических механизмов [7, 16, 19].

Высокая проникающая способность МПЗ в биологические ткани позволяет отнести его к внешним факторам прямого действия, способным вызывать структурные изменения на любом иерархическом уровне организации биологического объекта и тем самым оказывать воздействие на весь организм в целом [9, 11]. По степени чувствительности к влиянию магнитных полей (МП) первое место занимает нервная система, поскольку магнитные поля способны напрямую воздействовать на потенциал действия и проводимость нейронов [1, 3].

Вопрос о физических механизмах, лежащих в основе формирования и появления магнитобиологических эффектов (МБЭ), рассматривается в литературе достаточно давно. Например, в автореферате диссертации Бинге В.Н. [2] приводится достаточно подробное рассмотрение существующих на тот момент возможных теоретических обоснований формирования и проявления МБЭ

в биологических средах. В том числе, отмечается и возможность формирования дополнительного потенциала на поверхности клетки, помещенной в электрическое поле, вызываемое внешним магнитным полем.

При таком подходе к рассмотрению МБЭ и степени его проявления основными параметрами внешнего магнитного поля будут являться величина интенсивности (напряженности, индукции) МП и экспозиция [2].

В настоящее время существует ряд искусственно созданных человеком ситуаций (мест), где наблюдаются отклонения от естественного МПЗ. Многочисленные мощные источники (линии электропередачи, электрооборудование, радиопередатчики и т.д.) локально усиливают естественный магнитный фон. Тогда как в некоторых антропогенных системах естественный магнитный фон значительно снижен. Так, в условиях космических полетов МПЗ в значительной степени ослаблено. На высоте нахождения экипажей на орбитальных станциях магнитный фон снижен более чем на 3 порядка [13, 24]. Ранее считалось, что слабые статические магнитные поля безопасны для человека. В последние годы появляются данные, свидетельствующие о потенциальной опасности для организма воздействия таких полей, требующие, однако, подтверждения [18].

В связи с этим задачей настоящей статьи явилось обобщение результатов собственных исследований воздействия ослабленного магнитного поля Земли (ОМПЗ) и возникающих при этом слабых статических МП при физическом моделировании их параметров за счет экранирования на широкий спектр поведенческих, физиологических и молекулярно-клеточных характеристик у насекомых (дрозофила, медоносная пчела) и млекопитающих (крыса), а также на ряд клеточных культур грызунов и человека.

#### *Физическое моделирование ослабленного магнитного поля Земли путем экранирования*

Для физического моделирования ослабленного магнитного поля (ОМП) во всех обсуждаемых ниже работах использовались цилиндрические экранирующие камеры, изготовленные из немагнитного материала, покрытые сверху разным количеством слоев магнитомягкого экранирующего материала АМАГ 172 [12]. Все слои “намотаны” в одну сторону, с одного торца камера закрыта фиксированной заглушкой. Заглушка имеет экранирующее покрытие, идентичное покрытию камеры. Внутри камеры предусмотрена подставка из немагнитного материала, позволяющая устанавливать биологические объекты в центре по оси экранирующей камеры. Неоднородность величины индукции магнитного поля в центре камеры не превышала нескольких процентов, поэтому ОМП в месте расположения биологических объектов считалась в первом приближении однородной. Внутри этих экранирующих камер, в зависимости от количества слоев обмотки, достигается разная величина ослабления статического МП Земли (от 30 до 250 раз), кроме того используемый материал, по данным производителя, еще более эффективно экранирует от воздействия разного рода переменных МП, при этом существенное возрастание коэффициента экранирования наблюдается с МГц диапазона. Для определения величины индукции магнитного поля за пределами и внутри экранирующих камер были проведены измерения с использованием магнитометров Fluxmaster (StefanMayerInstruments, Dinslaken, Germany) (1 нТл–200 мкТл, с разрешением 1нТл) и НВ0302.1А (St. Petersburg, Russia) (0.1 мкТл–100 мкТл, с разрешением 0.1 мкТл). Величина индукции МП Земли в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, где проводились эксперименты, составляет 48–50 мкТл. Во всех случаях для контроля использовались аналогичные камеры без покрытия.

Выбор времени экспозиций биологических объектов в камерах осуществлялся, основываясь на отработанной практике работы с ними: часы–сутки для клеточных культур, несколько суток–дней недели – для живых объектов. Выбор степени ослабления МПЗ зависел от поставленной задачи физического моделирования воздействия

ослабленного поля: в сотни раз – для анализа состояний биообъектов в космосе и в десятки раз – для биообъектов в земных условиях. Кроме того, размерные ограничения на экранирующие камеры накладывала необходимость их помещения в термостат или инкубатор.

#### *Воздействие ослабления МПЗ на поведение: ассоциативную деятельность и ориентировочно-исследовательскую активность*

Объектами исследования способности к обучению и формированию памяти в условиях ОМПЗ служили линии *Drosophila melanogaster* – Canton-S (CS) и мутантная линия *agn<sup>ts3</sup>*, несущая температурно-чувствительную (*ts*) мутацию по гену *limk*, который кодирует ключевой фермент ремоделирования актина LIMK1, и медоносная пчела *Apis mellifera carnica* Pollm (Биоколлекция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН) [8, 9].

Для оценки способности к обучению и формированию памяти у дрозофилы использовали метод условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ) [9, 17], у медоносной пчелы – метод выработки условного рефлекса вытягивания хоботка на обонятельный раздражитель при однократном пищевом подкреплении [17]. Данные рефлексы основаны на безусловных обонятельных рефлексах и широко используются в экспериментах по ассоциативному обучению у дрозофилы и пчелы. У пчелы также фиксировали уровень пищевой мотивации и обонятельной чувствительности.

Во всех поведенческих экспериментах опытная группа животных подвергалась 12-часовому воздействию ОМП (внутри камеры пчелы и дрозофилы – 0.1 мкТл, крысы – 1.2 мкТл). В месте проведения эксперимента величина МП Земли составляла 40–45 мкТл. Для контроля-1 использовали камеру, имитирующую опытную – без покрытия. Размеры камеры соответствовали размерам изучаемых объектов. В качестве контроля-2 служили интактные животные, не подвергавшиеся воздействию. Период воздействия совпадал с темновой фазой циркадного ритма подопытных животных. Эксперименты начинали через 1 ч после прекращения воздействия ОМПЗ. В опытах на дрозофиле воздействию подвергали как особей на стадии имаго, так и личинок третьего возраста; в опытах на пчеле – рабочих особей в возрасте 10–30 сут.

Исследования, проведенные на насекомых – линии CS дрозофилы и медоносной пчеле – выявили значительное ухудшение способности удерживать в памяти – кратковременной, промежуточной и долговременной вырабатываемый у них условный рефлекс. 12-часовое пребывание в имитирующей камере не отразилось на когнитивной активности. Уровни пищевой мотивации и обонятельной чувствительности у пчел в условиях всех экспериментальных воздействий оставались

подобными таковым у интактных насекомых. После двенадцатичасового ослабления магнитного поля у пчелы ухудшалась и кратковременная (1 мин после обучения), и долговременная память (3 ч после обучения). У дрозофилы линии дикого типа Canton-S индекс обучения сразу после обучения не изменяется, тогда как через 3 ч значительно снижается. Вероятно, что длительное нахождение насекомых в условиях ОМПЗ приводит к нарушениям работы белков, участвующих в когнитивной (а не сенсорной и пищевой) деятельности, а именно – в процессах формирования долговременной памяти. В экспериментах, проведенных на пчелах, такое заключение следует из того, что сенсорная и пищевая возбудимость в контроле и опыте не различались. Возможно, что магниточувствительностью в ЦНС обладают некоторые белки-рецепторы, вовлеченные в формирование памяти, например, ионотропные рецепторы глутамата или ГАМК. Однако это предположение требует дальнейшей проверки.

Интересный факт был получен при изучении ассоциативной деятельности в условиях ОМПЗ мутантной линии дрозофилы *agn<sup>ts3</sup>*, самцы которой в норме не способны к обучению УРПУ. 12-часовое пребывание мутанта в условиях ОМП восстанавливало эту способность до нормального уровня линии CS. Предшествующие эксперименты [6] показали сходное воздействие на способность к обучению мутанта *agn<sup>ts3</sup>* такого стрессорного фактора, как повышение температуры, что позволило сделать заключение и о стрессорном характере влияния ОМПЗ, а также о его зависимости от индивидуальных нейрофизиологических характеристик изучаемого объекта. Последнее заключение нашло хорошее подтверждение при сравнительном изучении ориентировочно-исследовательской активности у линий крыс с высоким и низким порогами возбудимости нервной системы.

Параллельно с изучением характера влияния ОМПЗ на поведение (УРПУ) дрозофилы в работе Никитиной с соавторами [9] исследовали воздействие ОМПЗ на транскрипционную активность генов. При анализе интенсивности окрашивания ядер слюнных желез личинок дрозофилы линий CS и *agn<sup>ts3</sup>* с антителами к ацетилированному полизину 9/14 гистону H3 были выявлены как межлинейные различия, так и воздействие ОМПЗ на иммунореактивность клеток. Под действием ОМПЗ транскрипционная активность меняется разнонаправленно: у линии дикого типа CS интенсивность свечения возрастает, а у мутанта *agn<sup>ts3</sup>* незначительно уменьшается. Известно, что формирование долговременной памяти требует синтеза новых белков и изменения транскрипционной активности. Поэтому полученные факты об изменении транскрипционной активности генома могут указывать на изменение пула активных генов, что нарушает формирование памяти у дрозофилы.

Ориентировочно-исследовательскую активность изучали [15], используя стандартный метод “Открытое поле” (ОП) у линий крыс, селективированных в лаборатории генетики ВНД Института физиологии им. И.П. Павлова по порогу возбудимости большеберцового нерва – высокому и низкому (ВП, НП), и имеющих соответствующие контрастные различия по возбудимости структур ЦНС и поведению (Биоколлекция Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, патенты на селекционное достижение № 10769 и 10768, выданные ФГБУ “Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений”, зарегистрировано в государственном реестре охраняемых селекционных достижений 15.01.2020).

В открытом поле у крыс опытной и двух контрольных [1, 3] групп регистрировали следующие параметры поведения: латентный период первого движения (с), горизонтальная двигательная активность (число пересеченных квадратов), вертикальная двигательная активность (подъем на задние лапы, число стоек), эмоциональность (количество болюсов), груминг (число актов), фризинг (число актов), повороты налево (число актов), повороты направо (число актов), кручения (число актов). Результаты оценки разных компонентов ориентировочно-исследовательского поведения у крыс двух линий ВП и НП, интактных и через 1 ч после 12-часовой экспозиции в экранирующей внешней магнитное поле и имитирующей камерах, показали, что само пребывание животных в замкнутом пространстве камер влияет на разные компоненты их поведения в ОП в зависимости от линейных характеристик. Вместе с тем, полученные данные позволили установить, что собственно фактор ослабления экранированием внешнего магнитного поля (ОМП) влияет только на высоковозбудимых крыс линии НП и заключается в увеличении актов фризинга и ротаций, свидетельствующем о возможном усилении реакции страха и тревожности в новой обстановке, по сравнению с соответствующими контрольными группами. Низковоозбудимые животные линии ВП не отреагировали изменением поведения в ответ на ОМПЗ.

Совокупность результатов этих исследований позволяет сделать вывод о стрессорном характере влияния фактора ослабления внешнего магнитного поля Земли, в основном, тормозящего деятельность нервной системы и зависящего от нейрофизиологического статуса организма.

*Воздействие ослабленного МП Земли  
на гематологические и гемодинамические  
показатели организма*

В работе Стефанова с соавторами [11] стояла задача изучить изменения форменных элементов крови и гемодинамических показателей в качестве реакции целостного организма на действие ОМПЗ. Объектом исследования служили самцы

крыс линии Вистар (возраст – 3 мес.). Использовалась экранирующая камера с ослаблением МП Земли (48 мкТл) в 40 раз, так что величина индукции МП внутри камеры составляла 1.2 мкТл. Контролем служили животные, помещенные в имитирующую камеру. Забор крови для гематологического анализа (Abacus junior Vet (Diatron, Австрия)) у опытных и контрольных групп крыс осуществляли до постановки опыта, а также через 7, 14 и 21 день после помещения крыс в соответствующие камеры, а также через 5–6 дней после окончания воздействия. Измеряли объем и содержание эритроцитов в крови, содержание гемоглобина в эритроцитах, содержание лейкоцитов, нейтрофилов, гранулоцитов, а также гемодинамические показатели (артериальное давление – систолическое, межсистолические интервалы, вариабельность сердечного ритма). Рассчитывались низкая частота сердечного ритма (маркер активности симпатической нервной системы) и высокая частота (характеризующая вагусную активность). Полученные результаты демонстрируют ответ изучаемых гематологических и гемодинамических показателей в обеих группах крыс (опытной и контрольной), направленный на поддержание гомеостаза. Для опытной группы крыс, испытывающих ОМПЗ, наблюдали также специфическое усиление активности парасимпатической нервной системы с последующей адаптацией через две недели.

*Воздействие ослабления МП Земли на различные клеточные культуры грызунов и человека*

В работе Спивак с соавторами [10] применялась экранирующая камера, ослабляющая МП Земли в 250 раз, так что внутри камеры величина индукции МП составляла 0.192 мкТл. Воздействие осуществлялось в течение 1–24 ч, интервалы измерения 2, 6 и 24 ч. В качестве модельных объектов авторы использовали первичные фибробласты кожи человека – здорового донора (VH10) и больного атаксией-телеангиэктазией (AT8SP). Протеинкиназа АТМ (ataxia telangiectasia mutated) является ключевым белком клеточного ответа на возникновение двунитевых разрывов ДНК и конформационные изменения хроматина. Среди многочисленных мишеней АТМ-белки P53 и P21. Было обнаружено, что при воздействии ОМП клетки здорового донора демонстрируют картину, подобную той, которая возникает при повреждении ДНК – повышение количества белков P53 и P21, формирование фокусов 53BP1, тогда как в первичных фибробластах больных атаксией-телеангиэктазией никаких видимых изменений обнаружено не было. Авторы полагают, что при действии ОМП в фибробластах здорового донора развивается окислительный стресс и, как следствие, активация АТМ-зависимого сигнального пути. Запуск окислительного стресса может

происходить согласно ион-радикальному механизму, предложенному Бучаченко [5]: нарушается работа супероксиддисмутаз (СОД), которые являются важнейшими ферментами внутриклеточной антирадикальной защиты первой линии у аэробных организмов, что приводит к накоплению в клетках кислородных радикалов.

В работе Надеева с соавторами [21] изучалось воздействие ОМП Земли (0.192 мкТл внутри экранирующей камеры) в сравнении с нормальным магнитным полем Земли (МП, 50 мкТл внутри имитирующей контрольной камеры) на эритроциты крысы *in vitro* в присутствии третбутилгидропероксида (ТБГ) в качестве индуктора оксидативного стресса. Степень воздействия ОМП на эритроциты крови крыс-самцов аутбредной линии Вистар оценивали по количеству в суспензии общего гемоглобина (показатель лизиса) и наличию в лизате оксигемоглобина (оксиГб) и метгемоглобина (метГб). Наличие метГб свидетельствовало о повреждении эритроцитов активными формами кислорода (АФК). Кроме того, впервые в таких биохимических работах, была определена концентрация АФК в замороженных пробах суспензии эритроцитов после 15 ч инкубации методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР спектрометр Bruker Elexsys E580) с использованием спиновой ловушки ТЕМРО. Установлено, что после 4 ч инкубации проб с высокими концентрациями ТБГ (>700 мкМ), экспонированные в ОМП эритроциты высвобождали больше гемоглобина ( $p < 0.05$ ) преимущественно в форме метГб (52–72%). Эритроциты, находившиеся в условиях ОМП, продуцировали больше АФК по сравнению с эритроцитами, находившимися в условиях обычного МП. Полученные данные свидетельствуют о том, что гипомангнитное поле нарушает функциональное состояние эритроцитов, ускоряя их гибель и усиливая эффекты оксидативного стресса.

Работа Богданова с соавторами [4] посвящена сравнительному исследованию воздействия ОМП Земли на жизнеспособность клеточных культур фибробластов мыши СЗН10Т1/2 и эритробластов человека К-562 в условиях индуцированного оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта ( $\text{CoCl}_2$ ) – одного из самых токсичных загрязнителей окружающей среды. В данной работе использовались две цилиндрические экранирующие камеры с коэффициентами экранирования 100 и 250; соответствующие ОМП внутри камер составляли 0.48 и 0.192 мкТл. Время воздействия составляло 24 и 48 ч. Были использованы 2 разные клеточные линии. Пролиферативную активность и жизнеспособность клеточных культур К562 (хроническая миелогенная лейкемия человека, суспензионное культивирование) и СЗН10Т1/2 (фибробластоподобная линия эмбрионов мышей, монослойное культивирование) определяли с помощью МТТ-теста [20].

Статистически значимые различия в количестве жизнеспособных клеток после инкубации с экспозицией в МП Земли и в ОМП Земли, как на голодной среде ( $p < 0.05$ ), так и в среде с 10% сыворотки ( $p < 0.05$ ), проявились только на вторые сутки инкубирования культуры с  $\text{CoCl}_2$  (500 мкМ). Кроме этого на вторые сутки наблюдалось двукратное снижение жизнеспособных клеток, инкубированных в присутствии 250 мкМ  $\text{CoCl}_2$ , по сравнению с контрольной группой. Был сделан вывод о том, что ослабление магнитного поля Земли усиливает чувствительность клеток к токсичному воздействию  $\text{CoCl}_2$ . Это особенно ярко проявляется при культивировании на бессывороточной среде, которая лишена содержащихся в сыворотке антиоксидантов. Авторы предполагают, что полученные эффекты связаны с изменением активности оксидоредуктазных ферментов в ОМП. Цитотоксический эффект кобальта (II) в условиях ОМП может приводить к избытку АФК, индуцируя оксидативный стресс, апоптоз и некроз клеток.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Магнитное поле Земли – важнейший физический фактор воздействия на организм человека и животных, обеспечивающий поддержание разных сторон его жизнедеятельности. Магниторецепция у исследованных объектов находится в разной степени изученности. У пчелы магниторецепторами, которые они успешно используют для ориентации в пространстве, служат кристаллы  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , расположенные в клетках жирового тела в брюшке [23]. Обсуждается роль в рецепции магнитных полей насекомыми светочувствительного пигмента криптохрома [22]. У крыс механизмы магниторецепции не изучены.

Как показали результаты исследований, представленные в обзоре, многократное ослабление МПЗ за счет создания условий его экранирования, приводит к изменениям на поведенческом, клеточном, молекулярном уровнях, что продемонстрировано на насекомых – дрозофиле и медоносной пчеле, а также млекопитающих – крысе и биоматериале человека. Совокупность полученных результатов позволяет отнести исследуемое воздействие к стресс-факторам, действующим на все уровни жизнедеятельности организма, включая генетический аппарат. Внутриклеточные механизмы влияния ослабленного магнитного поля могут развиваться по типу оксидативного стресса. Характер реакции на ОМПЗ зависит от исходного генетически-детерминированного функционального состояния организма (порогов возбужденности нервной системы, биохимического статуса).

Важно подчеркнуть, что пребывание крыс в замкнутом пространстве контрольных камер, независимо от характеристик статического магнитного поля, негативным образом сказывалось на

всех изученных показателях. Однако специфическим для ОМПЗ явился четко выраженный тормозящий эффект, проявляющийся как на поведенческом, так и на организменном уровне (усиление тормозной функции вагуса). Аналогичное тормозное воздействие на способность к обучению и ориентировочно-исследовательскую активность крыс наблюдали при воздействии на них слабых статических магнитных полей в естественной среде, вызываемых современными устройствами (средства связи и др.) [18]. По-видимому, именно слабое статическое магнитное поле, возникающее в опытных условиях при ослаблении МПЗ, является действующим стрессорным фактором.

Следует обратить внимание на такой негативный аспект в действии ОМПЗ, как возможное усиление чувствительности к влиянию токсических веществ ( $\text{CoCl}_2$ ) [4]. Вместе с тем в той же работе отмечен потенциально важный терапевтический эффект воздействия ОМПЗ – замедление роста раковых и эндотелиальных клеток.

В настоящее время слабые статические магнитные поля широко используются в медицине [см. обзор 14]. Однако эффекты естественных и искусственных слабых статических магнитных полей и механизмов магниторецепции несомненно требуют дальнейшего детального изучения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А., Макарова И.И. Магнитное поле Земли и организм человека // Экол. Человека. 2005. № 9. С. 3–9.
2. Бинги В.Н. Физические механизмы магнитобиологических явлений. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора физико-математических наук. М: Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 2005. 49 с.
3. Бинги В.Н., Мияев В.А., Саримов Р.М., Заруцкий А.А. Влияние “нулевого” магнитного и электростатического полей на психофизиологическое состояние человека // Биомед. Радиоэлектроника. 2006. Т. 8–9. С. 48–58.
4. Богданов В.А., Сакута Г.А., Стефанов В.Е., Сурма С.В., Захаров Г.А., Щеголев Б.Ф. Воздействие ослабленного магнитного поля Земли на пролиферативную активность и жизнеспособность клеток K562 и СН10Т1/2 // Биофизика. 2018. Т. 63. № 6. С. 1164–1170.
5. Бучаченко А.Л. Магнитно-зависимые молекулярные и химические процессы в биохимии, генетике и медицине // Успехи химии. 2014. Т. 83. № 1. С. 1–12.
6. Васильева С.А., Токмачева Е.В., Медведева А.В., Ермилова А.А., Никитина Е.А., Щеголев Б.Ф., Сурма С.В., Савватеева-Попова Е.В. Роль родительского происхождения хромосом в нестабильности соматического генома клеток мозга дрозофилы и формировании памятного следа в норме и при стрессе // Цитология. 2019. Т. 61. № 12. С. 951–963.
7. Дубров А.П. Геомагнитное поле и жизнь. Краткий очерк по геомагнитобиологии. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1978. 176 с.



8. Лопатина Н.Г., Зачепило Т.Г., Дюжикова Н.А., Камышев Н.Г., Сурма С.В., Серов И.Н., Щеголев Б.Ф. Влияние изменений электромагнитных полей на пищевую и когнитивную активность медоносной пчелы // Интегр. Физиол. 2020. Т. 1. № 3. С. 231–241.
9. Никитина Е.А., Медведева А.В., Герасименко В.С., Проников В.С., Сурма С.В., Щеголев Б.Ф., Савватеева-Попова Е.В. Ослабленное магнитное поле земли: влияние на транскрипционную активность генома, обучение и память у *Drosophila melanogaster* // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2017. Т. 67. № 2. С. 246–256.
10. Спивак И.М., Куранова М.Л., Мавропуло-Столяренко Г.Р., Сурма С.В., Щеголев Б.Ф., Стефанов В.Е. Клеточный ответ на воздействие сверхслабых статических магнитных полей // Биофизика. 2016. Т. 61. № 3. С. 516–522.
11. Стефанов В.Е., Щеголев Б.Ф., Крячко О.В., Спивак И.М., Кузьменко Н.В., Сурма С.В. Модельное исследование биологических эффектов слабых статических магнитных полей на организменном и субклеточном уровнях // Докл. АН. 2015. Т. 461. № 4. С. 485–488.
12. Сурма С.В., Кузнецов П.А., Хрусталева Р.С., Песков Т.В., Щеголев Б.Ф. Устройство для исследования влияния электромагнитных полей на биологические объекты. Патент RU 2454675. 2012.
13. Труханов К.А. Некоторые магнитобиологические аспекты длительных и дальних космических полетов // Радиаци. Биол. Радиоэкология. 2003. Т. 43. № 5. С. 584–589.
14. Франциянц Е.М., Шейко Е.А. Противоопухолевое действие электромагнитных полей и их влияние на боль в экспериментальной и клинической онкологии // Исследования и практика в медицине. 2019. Т. 6. № 2. С. 86–99.
15. Ширяева Н.В., Вайдо А.И., Павлова М.Б., Сурма С.В., Щеголев Б.Ф. Влияние электромагнитных излучений на ориентировочно-исследовательскую активность и когнитивные функции крыс с кон-  
тастной возбудимостью нервной системы // Интегр. Физиол. 2020. Т. 1. № 2. С. 126–136.
16. Belyavskaya N.A. Biological effects due to weak magnetic field on plants // *Advances in Space Research*. 2004. V. 34. P. 1566–1574.
17. Bitterman M.E., Menzel R., Fietz A., Schäfer S. Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*) // *J. Comp. Physiol.* 1983. V. 97. № 2. P. 107–119.
18. Driessen S., Bodewein L., Dechent D., Graefrath D., Schmiedchen K., Stunder D., Kraus T., Petri A.-K. Biological and health-related effects of weak static magnetic fields ( $\leq 1$  mT) in humans and vertebrates: A systematic review // *PLoS ONE*. 2020. V. 15. № 6. P. 1–18.
19. Jia B., Shang P. Research progress of biological effects of hypomagnetic fields // *Space Med. Med. Eng.* 2009. V. 22. P. 308–312.
20. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays // *J. Immunol. Methods*. 1983. V. 65. № 1–2. P. 55–63.
21. Nadeev A.D., Terpilowski M.A., Bogdanov V.A., Khmelevskoy D.A., Shchegolev B.F. Surma S.V., Stefanov V.E., Jenkins R.O., Goncharov N.V. Effects of exposure of rat erythrocytes to a hypogeomagnetic field // *Biomed. Spectrosc. Imaging*. 2018. V. 7. № 3–4. P. 105–113.
22. Sheppard D.M.W., Li J., Henbest K.B., Neil S.R.T., Maeda K., Storey J., Schleicher E., Biskup T., Rodriguez R., Weber S., Hore P.J., Timmel C.R., Mackenzie S.R. Millitesla magnetic field effects on the photocycle of an animal cryptochrome // *Scientific Reports*. 2017. V. 7. P. 42228. P. 1–7.
23. Válková T., Vácha M. How do honeybees use their magnetic compass? Can they see the North? // *Bull. Entomol. Res.* 2012. V. 102. № 4. P. 461–467.
24. Zhadin M.N. Review of Russian literature on biological action of DC and low-frequency AC magnetic fields // *Bioelectromagnetics*. 2001. V. 22. № 1. P. 27–45.

## Biological Effects of Weakened Geomagnetic Field's Impact

B. F. Shchegolev<sup>1</sup>, S. V. Surma<sup>1</sup>, V. E. Stefanov<sup>2</sup>, M. B. Pavlova<sup>1, \*</sup>, N. V. Shiryaeva<sup>1</sup>,  
T. G. Zachepilo<sup>1</sup>, and N. G. Lopatina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pavlov Institute of Physiology, RAS, St. Petersburg, 199034 Russia

<sup>2</sup> Faculty of Biology, State University, St. Petersburg, 199034 Russia

\*e-mail: pavlova@infran.ru

**Abstract**—The survey summarizes results of original research on the impact of geomagnetic field weakened by shielding upon a wide range of behavioral, physiological and molecular-cell characteristics of insects (*Drosophila melanogaster*, honey bee) and mammals (rats), as well as some rodents' and human cell cultures. The study detected the absopal effect which amplifies the inhibitory function of the nervous system and is specific to the weakened geomagnetic field. The nature of the effect depends on genetically determined neurophysiological and biochemical characteristics of a biological object.

**Keywords:** geomagnetic field, magnetic shielding, magneto biological effects (MBE) stress, blood, hemodynamic parameters, learning and memory, exploratory-trying activity, excitability, cell cultures, *Drosophila melanogaster*, honey bee, rats

УДК 616.892

## ДИНАМИКА ПАТТЕРНОВ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОЗГА ПРИ ДЕЗАДАПТАЦИОННЫХ НАРУШЕНИЯХ

© 2022 г. О. Е. Дик\*

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия*

*\*e-mail: dickviola@gmail.com*

Поступила в редакцию 20.08.2021 г.

После доработки 29.10.2021 г.

Принята к публикации 12.11.2021 г.

Обзор посвящен применению методов вейвлетного, мультифрактального и рекуррентного анализа к исследованию изменений, происходящих в паттернах электрической активности мозга человека, регистрируемой в виде электроэнцефалограммы при дезадаптивных нарушениях, связанных с тревожно-фобическими расстройствами, паническими атаками и умеренными когнитивными нарушениями. Показана возможность применения этих методов для выявления объективных показателей коррекции психогенной боли при тревожно-фобических состояниях и улучшения функционального состояния нервной системы после стимулирующего воздействия, направленного на активацию функциональных связей мозга у лиц с паническими атаками и умеренными когнитивными нарушениями.

*Ключевые слова:* ЭЭГ, вейвлетный анализ, совместные рекуррентности, мультифрактальность, панические атаки, умеренные когнитивные нарушения

**DOI:** 10.31857/S0301179822010040

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в развитых странах отмечается значительный рост дезадаптивных нарушений, связанный с чрезмерным стрессом, оказывающим неблагоприятное воздействие на жизнь людей в мегаполисах [34, 40, 72, 73]. К таким невротическим заболеваниям, обусловленным эмоциональными перегрузками, относятся тревожно-фобические расстройства и панические атаки. При тревожно-фобических расстройствах характерными симптомами являются повышенная тревожность, нарушение сна, различные фобии и психогенная боль, означающая жалобы на абдоминальную, вертеброгенную или головную боль, не подтверждаемую медицинскими исследованиями [34]. Паническая атака представляет собой комплекс симптомов, характеризующийся пароксизмальным страхом, часто сопровождающимся чувством неминуемой гибели, или тревогой и ощущением внутреннего напряжения [40, 73, 74]. Возникновение данного патологического состояния может быть связано с нарушениями взаимоотношений симпатической и парасимпатической систем [35], а также с изменениями уровня катехоламинов [69], серотонина [77] или гамма-аминомасляной кислоты [52].

В последнее десятилетие также наблюдается рост когнитивных расстройств, что оказывается

одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем [11, 14, 16]. Сосудистые заболевания головного мозга являются частой причиной когнитивных расстройств у лиц старшего возраста [1, 31]. При хронической цереброваскулярной недостаточности состояние когнитивных функций коррелирует с выраженностью поражения головного мозга [29]. Проявления когнитивных нарушений могут протекать от минимальной дисфункции до деменции [65]. Высокий уровень тревожности, стрессовые расстройства повышают риск развития когнитивных нарушений [30, 36, 51]. Значительная распространенность этих нарушений (более 40%) среди неврологических пациентов обуславливает необходимость поиска способов их коррекции [31].

Боль психогенной природы, панические атаки и когнитивные нарушения сопровождаются нарушением функциональных связей между корой и подкорковыми структурами на различных уровнях (таламическом, гипоталамическом или стволовом) [22]. Это должно отражаться в изменении электрической активности мозга, по сравнению с ЭЭГ здорового мозга.

Анализ изменений в характеристиках паттернов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) мозга человека при возникновении различных патологических состояний центральной нервной системы

возможен с помощью современных математических методов, позволяющих оценивать не только частотные, но и мультифрактальные, и рекуррентные показатели ЭЭГ. Например, в работах [5, 21, 38, 39, 41, 50, 56, 57, 61, 63, 64, 66] показана возможность применения методов вейвлетного и мультифрактального и рекуррентного анализа для оценки таких изменений.

Важно отметить, что при лечении невротических заболеваний, связанных с возникновением психогенной боли или панической атаки, клиницисты отмечают значительные трудности [34]. Актуальность проблемы преодоления этих трудностей связана с недостаточной эффективностью и трудностью выбора главного направления терапии: одни исследователи отдают предпочтение фармакотерапии [62], а другие ведущую роль отводят психофизиологическим методам лечения [59]. Поэтому наряду с разработкой новых безопасных лекарственных препаратов в настоящее время актуальной является разработка эффективных и безопасных немедикаментозных методов терапии болевых симптомов и панических атак. Один из таких методов для снятия психогенной боли разработан в Научно-практическом центре реабилитации им. Г.А. Альбрехта [12, 53]. Другой метод для лечения фобических неврозов разработан в Институте мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН [27].

Первый метод основан на сосредоточении пациента с закрытыми глазами на месте локализации боли. Считается, что болевые ощущения по ассоциативным системам конвергируются в цветное отражение, возникающее в головном мозге при закрытых глазах [26, 53]. Другими словами, цветовые образы отражают болевую симптоматику и наличие психоэмоционального напряжения [13]. При этом психотерапевтическое воздействие, снижающее это напряжение, сопровождается достоверным увеличением цветов коротковолновой части спектра [26]. Таким образом, согласно этой методике, пациенты оценивают изменения интенсивности боли и отслеживают сопутствующую этим изменениям трансформацию цветовых пятен от цветов длинноволновой части спектра к коротковолновой на протяжении сеанса психорелаксации. Показано, что у некоторых пациентов снятие боли происходит к двадцатой минуте третьего сеанса, а другим требуется значительно большее количество сеансов [53].

Для оценки эффективности психотерапевтического воздействия для снятия болевого синдрома у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами в работах [4, 41, 42] применены методы вейвлетного и мультифрактального анализа фрагментов ЭЭГ во время ощущения пациентами психогенной боли и во время ее снятия с помощью психорелаксационной методики.

Разработанный в Институте мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН метод для лечения панических атак связан с активацией искусственных (искусственных) стабильных функциональных связей мозга человека [17]. В основе метода лежит внутримозговой феномен долговременной памяти, представляющий особый вид функциональных связей мозга, формирующихся в условиях активации подкорковых структур мозга [28]. Такие направленные воздействия играют важную роль для коррекции психофизиологической деятельности человека при различных заболеваниях органического и функционального генеза, а также для здоровых лиц в условиях эмоциональных перегрузок [18, 19]. Способность восстанавливать утраченные резервы психических процессов позволяет использовать этот метод в ситуациях, когда фармакотерапия имеет значительные побочные действия на организм [18–20].

Известно, что восстановление функционального состояния мозга происходит у больных с отчетливой реакцией усвоения ритмической фотостимуляции в исходной электроэнцефалограмме (ЭЭГ) [23]. При этом выраженность перестроек электрической активности мозга в соответствии с частотой световых импульсов, определяется возбудимостью нейронов коры головного мозга [32, 48]. В связи с этим для объективного подтверждения положительной динамики функционального состояния в процессе лечения методом активации функциональных связей можно использовать анализ реактивных паттернов ЭЭГ как ответа мозга на разные частоты световых импульсов до и после курса лечения. Такой анализ к оценке изменения степени невротизации у пациентов с неврологическими нарушениями в виде панических атак после лечебных воздействий, направленных на формирование функциональных связей мозга во время ритмической фотостимуляции проведен в работах [7, 46, 71]. Для оценки эффективности лечения панических атак в этих работах применены методы вейвлетного анализа и метода анализа совместных рекуррентностей ЭЭГ и светового сигнала.

В работах [8, 47, 71] рассмотрена динамика паттернов ЭЭГ мозга человека при умеренных когнитивных нарушениях до и после сеансов активации функциональных связей мозга и определены динамические характеристики, которые могут служить объективными показателями улучшения функционального состояния нервной системы после этих сеансов. Для этого использован метод анализа совместных рекуррентностей ритмических световых сигналов и ответов мозга на эти сигналы и дополнительный показатель, такой как коэффициент взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей светового сигнала и ответа мозга на определенные частоты.

## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Вейвлетный анализ паттернов ЭЭГ

Вейвлетный анализ паттернов ЭЭГ означает построение и анализ локальных и глобальных вейвлетных спектров и широко применяется при изучении электроэнцефалограмм мозга [10, 37–39, 50, 68].

Под локальным вейвлетным спектром понимается результат вейвлет-преобразования сигнала  $x(t)$ :

$$W(f, t_0) = \pi^{-1/4} \sqrt{f} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \exp(-0.5(t - t_0)^2 f^2) \times \\ \times (\exp(-i2\pi(t - t_0)f)) dt,$$

точнее, квадрат модуля этого вейвлет-преобразования  $|W(f, t_0)|^2$ , где  $f$  – частота,  $t_0$  – параметр временного сдвига [9]. Локальный вейвлетный спектр характеризует локализацию определенной частоты  $f$  по времени  $t_0$  ее возникновения в сигнале [50].

Под глобальным вейвлетным спектром понимается интеграл локального вейвлетного спектра по времени  $[t_1, t_2]$

$$E(f) = \int_{t_1}^{t_2} |W(f, t_0)|^2 dt_0,$$

т.е. интегральное распределение энергии вейвлетного спектра сигнала по частотам [50].

Таким образом, в отличие от быстрого преобразования Фурье, вейвлетный анализ позволяет на основании локального вейвлетного спектра или его проекции, по осям которой отложены время и частота, определять частотно-временную структуру сигнала, т.е. получать информацию об изменении частотных характеристик сигнала во времени, а на основании глобальных вейвлетных спектров выявлять различия в значениях энергии паттернов в разные моменты времени.

### Вейвлетный анализ паттернов ЭЭГ при ритмической фотостимуляции

При анализе реактивных паттернов ЭЭГ в ответ на ритмическую фотостимуляцию вейвлетный анализ имеет свои особенности, подробно изложенные в работах [6, 44, 45].

Ритмический фотостимул аппроксимируется в этих работах последовательностью  $k$  гауссовых импульсов, следующих друг за другом с заданной частотой  $f_c$ :

$$p(t) = \sum_{j=0}^{k-1} \frac{0.5}{r_0 \sqrt{\pi}} \exp\left(-\frac{(t - t_j)^2}{4r_0^2}\right),$$

где  $r_0$  – ширина импульса,  $t_j$  – центры импульсов в точках  $t_j = t_A + j/f_c$ ,  $j = 0, \dots, k-1$ ,  $t_A$  – время начала первого импульса в последовательности.

Вейвлетное преобразование такого сигнала  $p(t)$  с использованием базового вейвлета Морле определяется функцией:

$$W(f, t_0) = \pi^{-1/4} \frac{\sqrt{f}}{\sqrt{g}} \sum_{j=0}^{k-1} \exp\left(-\left(\frac{f}{4r_0^2} + g\right)(t_j - t_0)^2 + \right. \\ \left. + i \frac{2\pi f^2}{g}(t_j - t_0) + \frac{(2\pi r_0)^2 f^3}{g}\right),$$

где  $g = 1 + 2(r_0 f)^2$ .

Реакцию усвоения частоты фотостимуляции в паттернах ЭЭГ можно оценить по величине коэффициента усвоения ( $k_R$ ) в исследуемом частотном диапазоне  $[f_c - \Delta f, f_c + \Delta f]$ , где  $\Delta f = 0.5$  Гц, а также по нарастанию энергии вейвлетного спектра непосредственно во время фотостимуляции [44]. Коэффициент усвоения ритма ( $k_R$ ) определяется как отношение максимумов глобальных вейвлетных спектров во время и до действия фотостимула [4]:

$$k_R = E_{\max}(f)_{\text{during}} / E_{\max}(f)_{\text{before}}.$$

Значение коэффициента  $k_R < 1$  означает меньшее значение максимума глобального вейвлетного спектра во время фотостимуляции, по сравнению с максимумом спектра до фотостимуляции, т.е. отсутствие нарастания энергии вейвлетного спектра при действии определенного светового сигнала и, соответственно, отсутствие усвоения заданной частоты [39].

### Мультифрактальный анализ паттернов ЭЭГ

Метод мультифрактального анализа основан на поиске локальных максимумов вейвлетного спектра и определения скорости уменьшения вейвлет-коэффициентов при уменьшении частоты  $f$  [33, 60].

Для каждого значения  $f$  находится множество  $L(f)$  линий локальных максимумов модулей вейвлет-коэффициентов, т.е. линий, для которых выполняется следующее условие:

$$\frac{\partial |W(f, t_0)|}{\partial t} = 0.$$

Затем вдоль каждой линии вычисляются частичные функции  $Z(q, f)$  как сумма  $q$  степеней максимумов модулей вейвлет-коэффициентов вдоль каждой линии, так называемые обобщенные статистические суммы:

$$Z(q, f) = \sum_{l \in L(f)} (\sup |W(f^*, t_l(f^*))|)^q,$$

где  $t(f^*)$  определяет положение максимума, соответствующего линии  $l$  на этом масштабе.

Далее вычисляется скейлинговая экспонента  $\tau(q)$ :

$$\tau(q) \sim \log_{10} Z(q, f) / \log_{10} f.$$

Если зависимость  $\tau(q)$  будет линейной, то значение экспоненты Гельдера  $h(q) = \text{const}$ . В этом случае анализируемый сигнал будет монофрактальным. Если же зависимость  $\tau(q)$  нелинейна, то  $h(q) = d\tau(q)/dq \neq \text{const}$ . В этом случае сигнал оказывается мультифрактальным с большим числом экспонент Гельдера [15].

Распределение экспонент Гельдера называется спектром сингулярности:

$$D(h) = qh(q) - \tau(q).$$

При анализе спектра сингулярности важными оказываются ширина этого спектра  $\Delta h$ , характеризующая степень мультифрактальности сигнала, и положение спектра сингулярности  $D(h)$  на оси значений  $h$ , т.к. это положение дает информацию о степени коррелированности последовательных значений сигнала. Величины  $h < 0.5$  соответствуют антикоррелированной динамике, а величины  $h > 0.5$  – коррелированной динамике [15]. Коррелированность последовательных значений сигнала означает, что с большей вероятностью за большим значением сигнала следует большее, и наоборот. В случае, если динамика является одновременно и коррелированной, и антикоррелированной, спектр сингулярности находится в интервале значений  $0 < h < 1$  [75, 76].

#### Метод анализа совместных рекуррентностей ЭЭГ и светового сигнала

Метод анализа совместных рекуррентностей ЭЭГ и светового сигнала основан на оценке совместных рекуррентных диаграмм паттерна ЭЭГ и светового сигнала и использован в работах [2, 5, 6, 47, 48].

Совместная рекуррентная диаграмма представляет собой графическое представление матрицы

$$R_{i,j}(\epsilon) = \begin{cases} 1, & y_i \approx y_j, z_i \approx z_j, \\ 0, & y_i \neq y_j, z_i \neq z_j, \end{cases}$$

в которой значения 1 или 0 соответствуют черной или белой точкам, при этом черная точка означает наличие рекуррентности, а белая точка – ее отсутствие [58].

Совместная рекуррентность с точностью до  $\epsilon$ -ошибки определяется как возврат состояния  $y_j$  фазовой траектории сигнала ЭЭГ к состоянию  $y_i$  и одновременный возврат состояния  $z_j$  фазовой траектории светового сигнала к состоянию  $z_i$  [58].

Фазовые траектории состояний  $z(t)$  и  $y(t)$  получаются из исходных сигналов  $x(t)$  и  $p(t)$  методом временных задержек [70]:

$$y(t) = (x(t), x(t+d), \dots, x(t+(m-1)d),$$

где  $d$  – временная задержка,  $m$  – размерность вложения (минимальная размерность пространства, в котором восстановленная траектория воспроизводит свойства исходной траектории).

Оптимальная временная задержка  $d$  находится, как правило, на основании поиска первого минимума функции взаимной информации [49], а оптимальная размерность вложения  $m$  определяется методом поиска минимума ближайших ложных соседей [54]. Величину  $\epsilon$ -ошибки обычно выбирают равной 1% от величины стандартного отклонения анализируемого фрагмента ЭЭГ [57].

Реакцию усвоения ритма в паттернах ЭЭГ методом анализа совместных рекуррентностей можно оценить по следующим показателям совместных рекуррентных диаграмм [58]:

1) общее число рекуррентных точек  $RR$  в рекуррентной диаграмме:

$$RR = \frac{1}{N^2} \sum_{i,j} R_{i,j}(\epsilon),$$

2) отношение числа рекуррентных точек, составляющих диагональные структуры, к общему числу рекуррентных точек (так называемый показатель детерминизма):

$$DET = \sum_{l=l_{\min}}^N IP(\epsilon, l) / \sum_{i,j} R_{i,j}(m, \epsilon),$$

где  $P(\epsilon, l) = \{l_i, i = 1, \dots, N_l\}$  – частотное распределение диагональных линий длины  $l$  в рекуррентной диаграмме,  $N$  – число всех диагональных линий,

3) коэффициент взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  светового сигнала и ответа мозга на определенные частоты [67]:

$$CPR = \frac{1}{\sigma_1 \sigma_2} \sum_{\tau=\tau_e}^{N/2} (P_1(\tau) - \overline{P_1(\tau)}) (P_2(\tau) - \overline{P_2(\tau)}),$$

где величина

$$P_i(\tau) = \frac{1}{N - \tau} \sum_{i=1}^{N-\tau} R_{i, i+\tau}(\tau)$$

определяет вероятность рекуррентности фазовой траектории  $y(t)$  в окрестности состояния  $y_j$  спустя время  $t$ ,  $\overline{P_1(\tau)}$  и  $\overline{P_2(\tau)}$  – средние значения вероятностей,  $\sigma_1$  и  $\sigma_2$  – стандартные отклонения  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$ ,  $d_e$  – значение  $t$ , при котором  $P_i(\tau) = 1/e$ ,  $i = 1, 2$ .

Длинные диагонали выявляют аналогичную эволюцию во времени в двух колебательных процессах, а короткие диагонали показывают уменьшение сходства динамики процессов [58]. Поэтому рекуррентная диаграмма для двух периодических сигналов содержит длинные диагонали, находящиеся друг от друга на расстоянии, равном периоду колебаний, и величина показателя детерминизма, определяющего число рекуррентных точек, лежащих на диагональных линиях,  $DET = 1$ . Для двух полностью стохастических сигналов совместная рекуррентная диаграмма не содержит длинных диагоналей, а имеет практически только изолированные точки, при этом величина показателя детерминизма  $DET$  близка к нулю. Таким образом, значение показателя  $DET$ , определяющего процент рекуррентных точек, расположенных на диагональных линиях совместной рекуррентной диаграммы, связано со сходством динамического поведения двух колебательных процессов.

Совпадение максимумов вероятностей рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  для двух фазовых траекторий  $z(t)$  и  $y(t)$  при одинаковых временах  $kt$ , где  $k$  – целое число, означает наличие фазовой синхронизации двух исходных сигналов  $x(t)$  и  $p(t)$  [55]. В этом случае значение коэффициента взаимной корреляции  $CPR$  близко к 1. Напротив, если два сигнала не находятся в фазовой синхронизации, максимумы вероятностей рекуррентностей возникают неодновременно, и значение  $CPR$  близко к 0. Так, для полностью синхронизованных сигналов значение  $CPR = 1$ , а для полностью стохастических сигналов значение  $CPR$  близко к нулю.

## АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПАТТЕРНОВ ЭЭГ ПРИ ТРЕВОЖНО-ФОБИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВАХ

### *Вейвлетные спектры паттернов ЭЭГ при тревожно-фобических расстройствах*

В работах [4, 42, 43] показано, что в состоянии концентрации внимания на болевом ощущении ЭЭГ некоторых пациентов содержит альфа и тета ритм, ЭЭГ других – только тета ритм. В связи с этим пациенты с тревожно-фобическими расстройствами распределены в этих работах по двум группам. Во время психорелаксации уровень тета-активности значительно уменьшался у 45% пациентов первой группы, а у 55% этой группы тета-активность сохранялась. При этом улучшение психологического состояния не всегда коррелировало с уменьшением тета-активности. Полное устранение болевого ощущения наблюдалось только у тех лиц, у которых цветовые пятна трансформировались в голубой цвет (61% пациентов первой группы). У 39% больных этой группы во время концентрации на болевом ощущении наблюдались преимущественно цвета длинновол-

новой части спектра (красный, желтый), и эти цвета сохранялись во время психорелаксации [4, 42]. Для 19% пациентов второй группы при психорелаксации ахроматический черный цвет изменялся на длинноволновой красный, у 81% пациентов трансформация цветовых пятен не наблюдалась. Оба случая не сопровождалось снятием болевого ощущения [4, 42]. На основании вейвлетного анализа были оценены локальные и глобальные вейвлетные спектры фрагментов ЭЭГ до, во время и после психотерапевтического воздействия.

Рассмотрим примеры этих локальных и глобальных вейвлетных спектров ЭЭГ при тревожно-фобических расстройствах (рис. 1). При ощущении психогенной боли пациентом из первой группы с тревожно-фобическими расстройствами в глобальном вейвлетном спектре наблюдается два максимума на частотах альфа- и тета-диапазонов ( $E_{\max} = 5 \times 10^5$  и  $E_{\max} = 5.1 \times 10^5$ ) (рис. 1а, 1д).

Во время психорелаксации значения максимумов глобальной энергии уменьшаются до величины  $E_{\max} = 4.8 \times 10^4$  на частоте альфа-диапазона и до  $E_{\max} = 1.9 \times 10^4$  на частоте тета-диапазона (рис. 1б, 1е). Для пациента с тревожно-фобическими расстройствами из второй группы единственный максимум на частотах тета-диапазона  $E_{\max} = 10 \times 10^4$  (рис. 1в, 1ж) уменьшается во время психорелаксации до величины  $E_{\max} = 2.48 \times 10^4$  (рис. 1г, 1з).

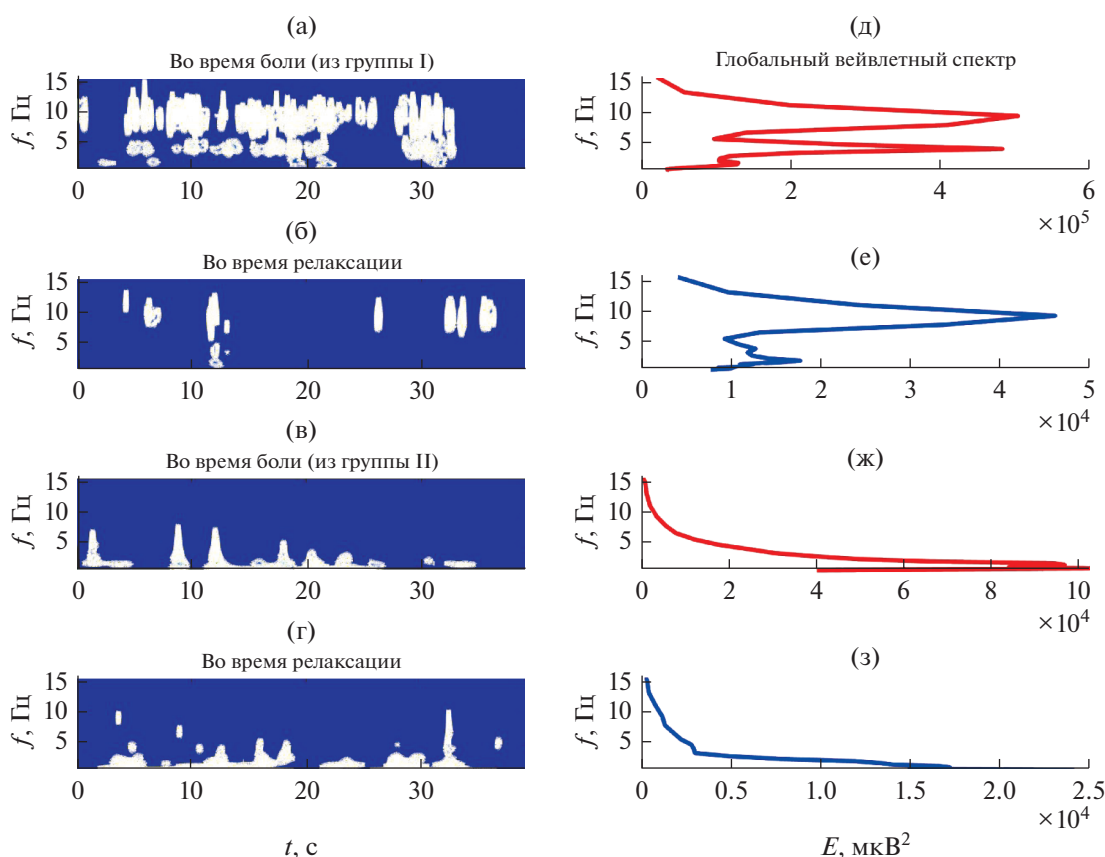
Отметим, что у всех пациентов первой и второй группы во время психорелаксации энергия вейвлетного спектра уменьшалась приблизительно в десять раз, однако не у всех пациентов во время сеансов психорелаксации происходило устранение психогенной боли. Это означает, что использование параметра  $E_{\max}$  вейвлетного спектра не позволяет надежно оценить эффективность психорелаксационной методики по устранению психогенной боли у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами.

### *Мультифрактальные характеристики паттернов ЭЭГ при тревожно-фобических расстройствах*

В работах [4, 42] продемонстрирована возможность оценки эффективности психорелаксационной методики по устранению психогенной боли у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами на основании анализа мультифрактальных характеристик фрагментов ЭЭГ до и во время сеансов психорелаксации.

На рис. 2 представлены усредненные спектры сингулярностей во время ощущения психогенной боли и во время психорелаксации у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами из первой и второй группы.

Ширина спектра сингулярностей для первой группы меньше, чем для второй как во время ощущения психогенной боли, так и во время пси-



**Рис. 1.** Примеры локальных и глобальных вейвлетных спектров ЭЭГ человека с тревожно-фобическими расстройствами из первой и второй группы.

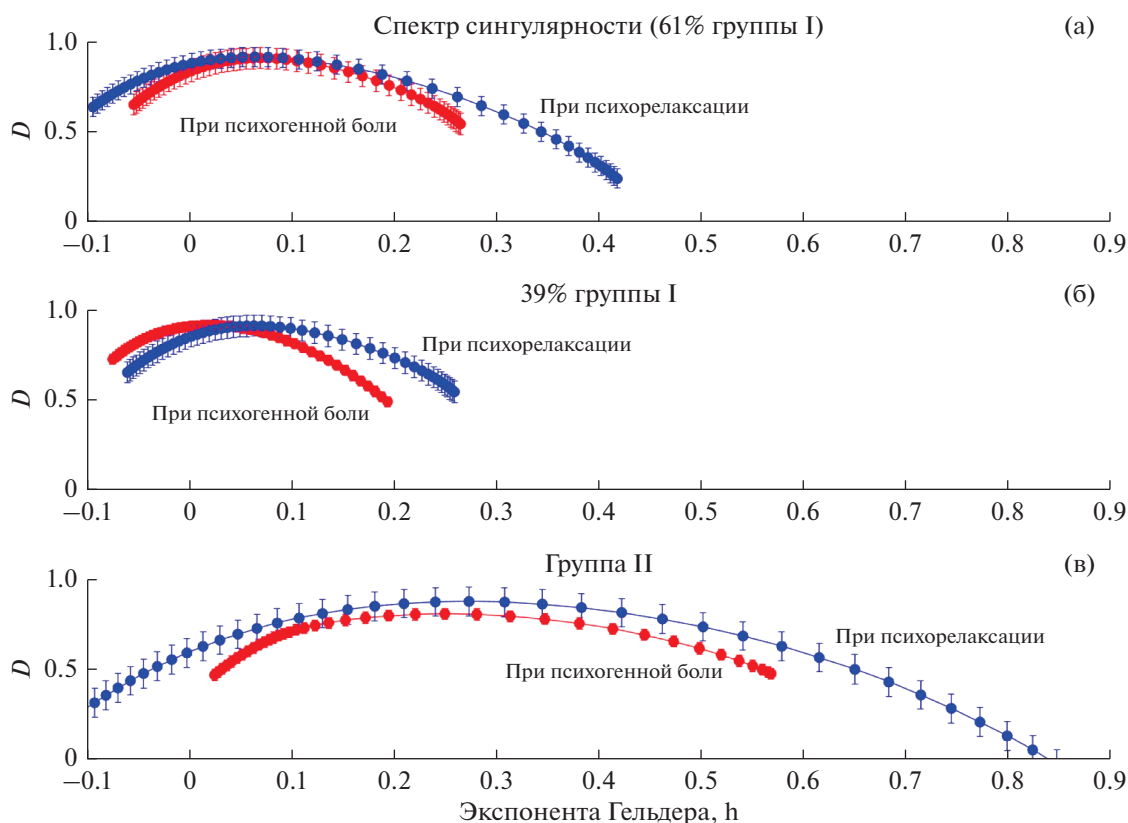
хорелаксации (рис. 2а, 2б, 2в). Во время сеанса психорелаксации значение ширины спектра сингулярности для первой группы увеличивается (рис. 2а, 2б), однако в обоих случаях максимальная величина экспоненты Гельдера  $h_{\max} < 0.5$ , что означает, что спектры сингулярности для первой группы соответствуют антикоррелированной динамике последовательных значений ЭЭГ. При этом для 61% пациентов первой группы ширина спектра сингулярности значимо возрастает во время психорелаксации, а у 39% лиц изменяется незначительно (рис. 2а, 2б соответственно). Это совпадает с полным устранением болевого ощущения у 61% пациентов исследуемой группы. Таким образом, устранение болевого синдрома коррелирует с уменьшением степени антикоррелированности последовательных значений ЭЭГ.

Для второй группы степень мультифрактальности последовательных значений ЭЭГ значительно превышает эту величину для первой группы ( $h_{\max} = 0.98 \pm 0.09$ ,  $\Delta h = 0.95 \pm 0.08$ , во время сеанса психорелаксации (рис. 2в). Спектры сингулярностей соответствуют как коррелированной ( $h > 0.5$ ), так и антикоррелированной ( $h < 0.5$ ) динамике. Это коррелирует с отсутствием устранения болевого ощущения у больных из второй группы.

Обобщенная информация о средних значениях ширины спектра сингулярности ( $\Delta h$ ) и максимума глобального вейвлетного спектра ( $E_{\max}$ ) для двух групп исследуемых пациентов, а также данные об устранении или отсутствии устранения болевого ощущения представлена в табл. 1.

Данные табл. 1 показывают, что в первой группе устранение болевого ощущения при психорелаксации наблюдается у 61% пациентов группы и коррелирует с возрастанием ширины спектра сингулярности до значений, близких к 0.5. В ЭЭГ 39% пациентов этой группы ширина спектра сингулярности возрастает незначительно во время психорелаксации, и болевое ощущение сохраняется. Для второй группы характерно отсутствие устранения болевого ощущения при психорелаксации у 100% лиц, сохранение коррелированной динамики ( $h > 0.5$ ) последовательных значений ЭЭГ и высокая степень мультифрактальности. Следовательно, устранение болевых симптомов во время психорелаксации у лиц с тревожно-фобическими расстройствами характерно только для пациентов первой группы.

Таким образом, механизмы, лежащие в основе коррекции психогенной боли при тревожно-фобических состояниях, связаны с изменением ди-



**Рис. 2.** Примеры спектров сингулярностей у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами во время ощущения психогенной боли (кривые отмечены красным) и во время релаксации (голубым).

динамики последовательных значений ЭЭГ и степени их мультифрактальности. Рассмотренный подход позволяет количественно оценить эффективность психорелаксационной методики, применяемой для устранения психогенной боли у конкретных пациентов. Отметим, что уменьшение степени антикоррелированности последовательных значений ЭЭГ означает уменьшение случайности “up-down patterns”, и, соответственно, уменьшение неустойчивости нейродинамических процессов мозга, что, в свою очередь, соответствует оптимизации корково-подкорковых отношений у 61% тестируемых пациентов первой группы.

### АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПАТТЕРНОВ ЭЭГ ПРИ ПАНИЧЕСКИХ АТАКАХ

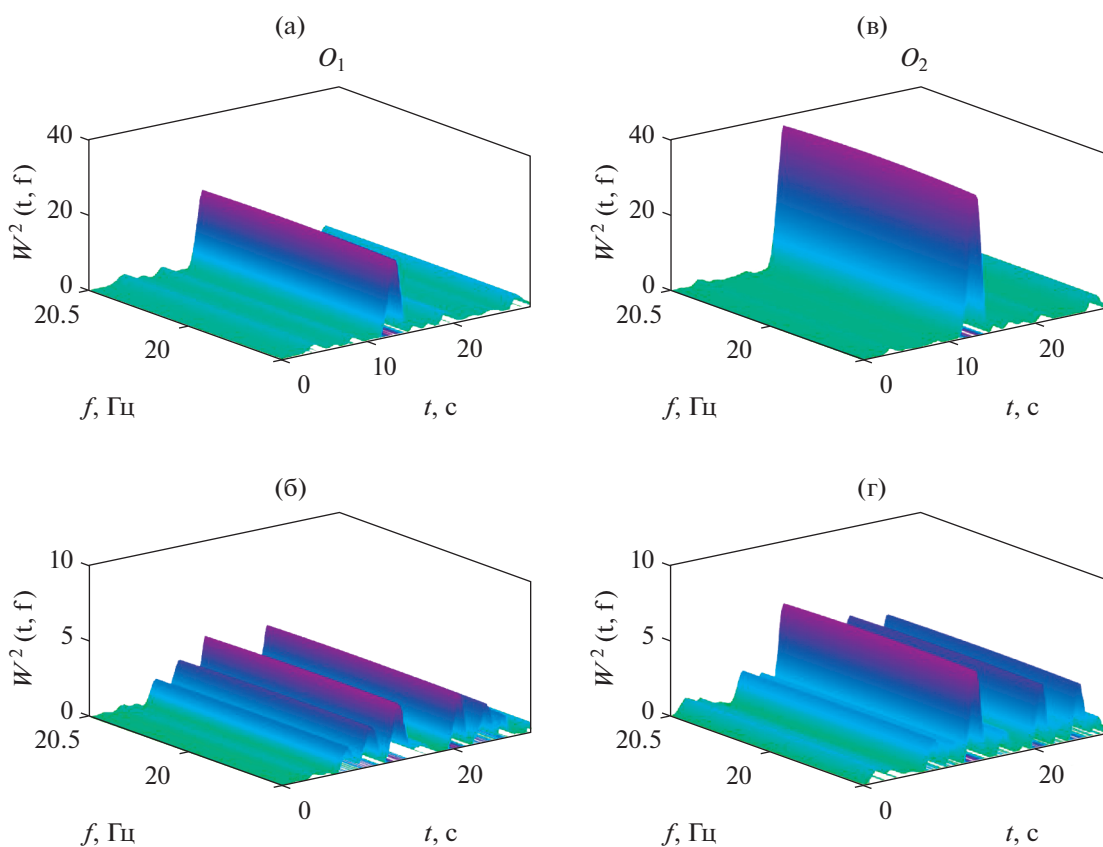
#### *Вейвлетные спектры паттернов ЭЭГ при панических атаках*

В работах [7, 46] показано, что в фоновой ЭЭГ 69% больных с паническими атаками до сеансов активации функциональных связей мозга преобладает высокоамплитудная активность тета-диапазона, а в ЭЭГ 31% больных наблюдается низкоамплитудная полиморфная активность в дельта-, тета- и альфа-диапазонах. Сеансы активации функциональных связей мозга приводят к значи-

**Таблица 1.** Сравнение средних значений  $\Delta h$  и  $E_{\max}$  для двух групп с тревожно-фобическими расстройствами и данных об устранении или отсутствии устранения болевого ощущения во время психорелаксации

Физиологическое состояние	Максимум глобального спектра, $E_{\max} \times 10^4$	Ширина спектра сингулярности, $\Delta h$	Устранение болевого ощущения
<i>Первая группа:</i>			
Во время боли	$61.5 \pm 5.8$	$0.28 \pm 0.03$	нет (39%) да (61%)
Во время психорелаксации	$7.7 \pm 0.8$	$0.35 \pm 0.03$	
Во время психорелаксации	$5.1 \pm 0.5$	$0.52 \pm 0.06$	
<i>Вторая группа:</i>			
Во время боли	$4.5 \pm 0.3$	$1.22 \pm 0.11$	нет (100%)
Во время психорелаксации	$0.62 \pm 0.05$	$1.03 \pm 0.10$	





**Рис. 3.** Уменьшение ассиметрии вейвлетных спектров паттернов ЭЭГ после сеансов активации функциональных связей мозга. Локальные вейвлетные спектры паттернов ЭЭГ: до этих сеансов в отведениях  $O_1$  (а) и  $O_2$  (в) и после них в отведениях  $O_1$  (б) и  $O_2$  (г).

тельному уменьшению амплитуды тета-активности или к исчезновению полиморфной активности и усилению активности в альфа-диапазоне [46].

Реактивные паттерны ЭЭГ во время фотостимуляции у большинства пациентов характеризуются ассиметрией ответов затылочных долей мозга на фотостимул. Это проявляется в различных значениях максимумов локальных вейвлетных спектров паттернов ЭЭГ, регистрируемых в  $O_1$  и  $O_2$  затылочных отведениях. Примеры локальных вейвлетных спектров паттернов ЭЭГ в этих отведениях представлены на рис 3. Максимум локального вейвлетного спектра паттерна ЭЭГ в отведении  $O_2$  и в данном примере в 1.5 раза превышает максимум спектра в отведении  $O_1$ .

Глобальные вейвлетные спектры паттернов ЭЭГ, построенные в работах [7, 46], в узких частотных диапазонах вблизи частоты фотостимуляции, до начала действия фотостимула и во время фотостимуляции, показали значительно большее увеличение ответа мозга на фотостимул частоты 20 Гц до проводимых сеансов активации функциональных связей мозга и очень слабое повышение после проводимых сеансов.

В табл. 2 приведены средние значения коэффициентов усвоения ( $k_R$ ) для реактивных паттер-

нов ЭЭГ до и после сеансов активации функциональных связей мозга.

До сеансов активации функциональных связей мозга для пациентов с паническими атаками значение коэффициента усвоения ритма  $k_R < 1$  для частоты тета-диапазона, что означает отсутствие нарастания энергии паттерна ЭЭГ во время фотостимуляции и отсутствие усвоения ритма данного диапазона. Незначительное усвоение выявляется для частот альфа-диапазона ( $k_R = 1.9 \pm 0.2$  и  $k_R = 2.7 \pm 0.2$  для 12 Гц и  $k_R = 1.1 \pm 0.1$  для 8 Гц). Значительное усвоение определяется для частот бета-диапазона, например,  $k_R = 22 \pm 1.9$  и  $k_R = 101 \pm 11$  для 20 Гц. При этом отмечается практически пятикратное превышение значений коэффициента усвоения ритма  $k_R$  для отведения  $O_2$ , по сравнению со значениями для отведения  $O_1$ . Таким образом, данные табл. 2 демонстрируют статистически значимые различия в средних значениях коэффициента  $k_R$ , вычисленных для затылочных отведений  $O_1$  и  $O_2$  ( $p < 0.05$ ), что свидетельствует об ассиметрии реакции усвоения ритма бета-диапазона у большинства тестируемых пациентов.

**Таблица 2.** Усредненные значения коэффициентов усвоения ( $k_R$ ) ритма заданной частоты

До активации функциональных связей мозга				После активации функциональных связей мозга		
$f$ (Гц)	$O_1$	$O_2$	$p$	$O_1$	$O_2$	$p$
Коэффициент усвоения ( $k_R$ ) ритма заданной частоты						
6	<1	<1	0.094	<1	<1	0.085
8	<1	$1.1 \pm 0.1$	0.087	<1	<1	0.075
12	$1.9 \pm 0.2$	$2.7 \pm 0.2$	0.078	<1	<1	0.068
14	$5.4 \pm 0.5$	$122 \pm 18$	0.039	$2.1 \pm 0.2$	$3.5 \pm 0.3$	0.081
18	$35 \pm 3.7$	$147 \pm 15$	0.045	$11 \pm 1.2$	$17 \pm 1.8$	0.074
20	$22 \pm 1.9$	$101 \pm 11$	0.038	$5.5 \pm 0.5$	$7.1 \pm 0.7$	0.081

После сеансов активации функциональных связей мозга асимметрия ответов затылочных долей мозга становится статистически незначимой ( $p > 0.05$ ), а значения коэффициента усвоения ритма частот альфа-диапазона  $k_R < 1$ , что означает отсутствие усвоения ритма альфа-диапазона. Усвоение ритма бета-диапазона значительно уменьшается ( $k_R = 11 \pm 1.2$  для отведения  $O_1$  и  $k_R = 17 \pm 1.8$  для отведения  $O_2$  для частоты 18 Гц).

В работах [7, 46] динамика изменения усвоения ритма в паттернах ЭЭГ у пациентов с паническими атаками после сеансов активации функциональных связей мозга подтверждена также изменением одновременных рекуррентностей в совместных рекуррентных диаграммах этих паттернов и ритмических световых сигналов определенных частот.

#### *Анализ совместных рекуррентностей паттернов ЭЭГ и ритмических световых сигналов при панических атаках*

Примеры совместных рекуррентных диаграмм фрагментов ЭЭГ и ритмического светового сигнала частоты 20 Гц до и после сеансов активации функциональных связей мозга представлены на рис. 4б и 4г соответственно. Соответствующие паттерны ЭЭГ во время фотостимуляции данной частотой показаны на рис. 4а и 4в синей линией, а фотостимул – красной линией.

Левая диаграмма (рис. 4б) имеет рекуррентные структуры, содержащие длинные диагональные линии, что свидетельствует о возникновении одновременных рекуррентностей в паттерне ЭЭГ и световом сигнале заданной частоты. Во время нарастания амплитуды ответа мозга на фотостимуляцию предложенной частоты (интервал значений  $nL$  от 600 до 1800) число одновременных рекуррентностей возрастает, что отражается в увеличении длины диагональных линий в рекуррентной диаграмме. В отличие от этого, правая диаграмма (рис. 4г) содержит только короткие диагональные линии, что свидетельствует о слабой совместной рекуррентности в данном световом сигнале и анализируемом паттерне ЭЭГ.

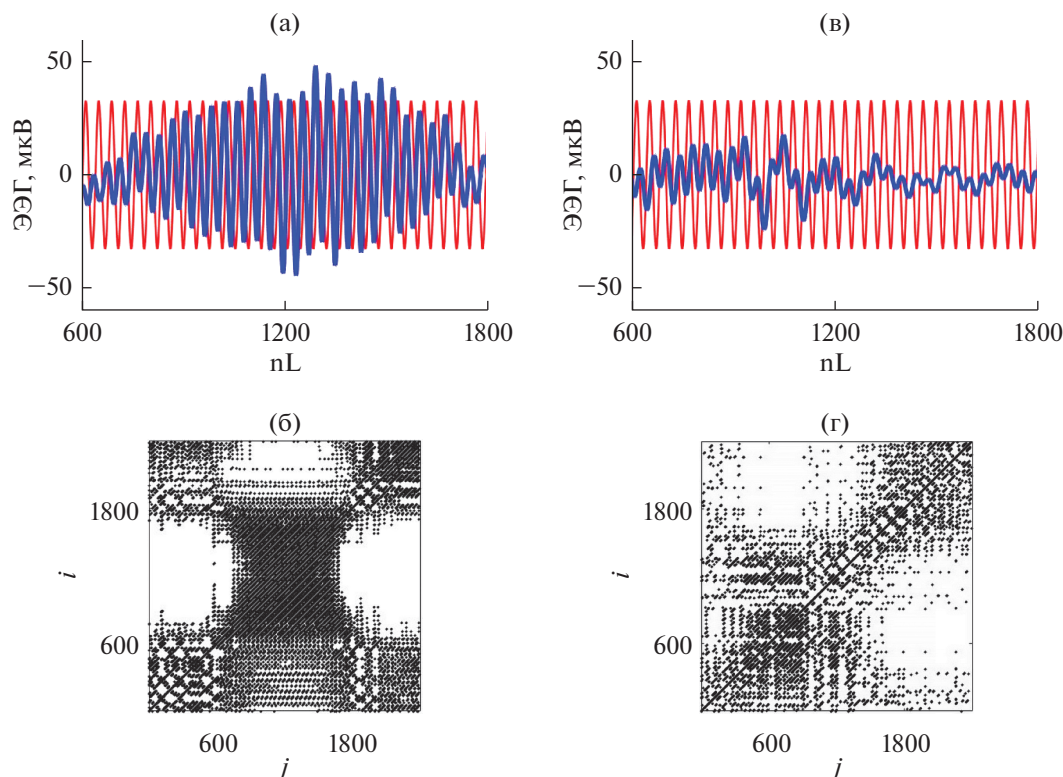
В табл. 3 приведены усредненные значения изменения общего числа рекуррентных точек ( $RR$ ) в рекуррентной диаграмме для реактивных паттернов ЭЭГ до и после сеансов активации функциональных связей мозга. Данные табл. 3 свидетельствуют об уменьшении числа рекуррентных точек  $RR$  после сеансов активации функциональных связей мозга для частот бета-диапазона. Для частоты 18 Гц значение  $RR = 0.13 \pm 0.01$  (для отведения  $O_1$ ) и  $RR = 0.15 \pm 0.01$  (для отведения  $O_2$ ) до этих сеансов и  $RR = 0.03 \pm 0.003$  и  $RR = 0.02 \pm 0.002$  после них соответственно. Для частот альфа- и тета-диапазонов характерно отсутствие статистически значимых изменений динамики показателей рекуррентных диаграмм во время действия фотостимула до и после сеансов активации функциональных связей мозга.

Таким образом, и метод вейвлетного анализа, и метод анализа совместных рекуррентностей указывают на то, что для пациентов с паническими атаками отмечается значительная реакция усвоения ритма частот именно бета-диапазона и отсутствие реакции усвоения ритма частот тета- и альфа-диапазона или незначительная реакция усвоения некоторых частот альфа-диапазона. Активация искусственных стабильных функциональных связей мозга приводит к уменьшению значений коэффициента усвоения и уменьшению общего числа рекуррентных точек для частот возбуждения бета-диапазона. Другими словами, сеансы активации функциональных связей мозга вызывают значительное снижение усвоения ритма бета-диапазона.

### АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ПАТТЕРНОВ ЭЭГ ПРИ УМЕРЕННЫХ КОГНИТИВНЫХ НАРУШЕНИЯХ

#### *Вейвлетные спектры паттернов ЭЭГ при умеренных когнитивных нарушениях*

Примеры вейвлетных спектров реактивных паттернов ЭЭГ в ответ на фотостимуляцию частотой 10 Гц, полученных до и после сеансов активации функциональных связей мозга, представлены на рис. 5. Для паттерна ЭЭГ, зарегистрированного до этих сеансов, характерно следующее.



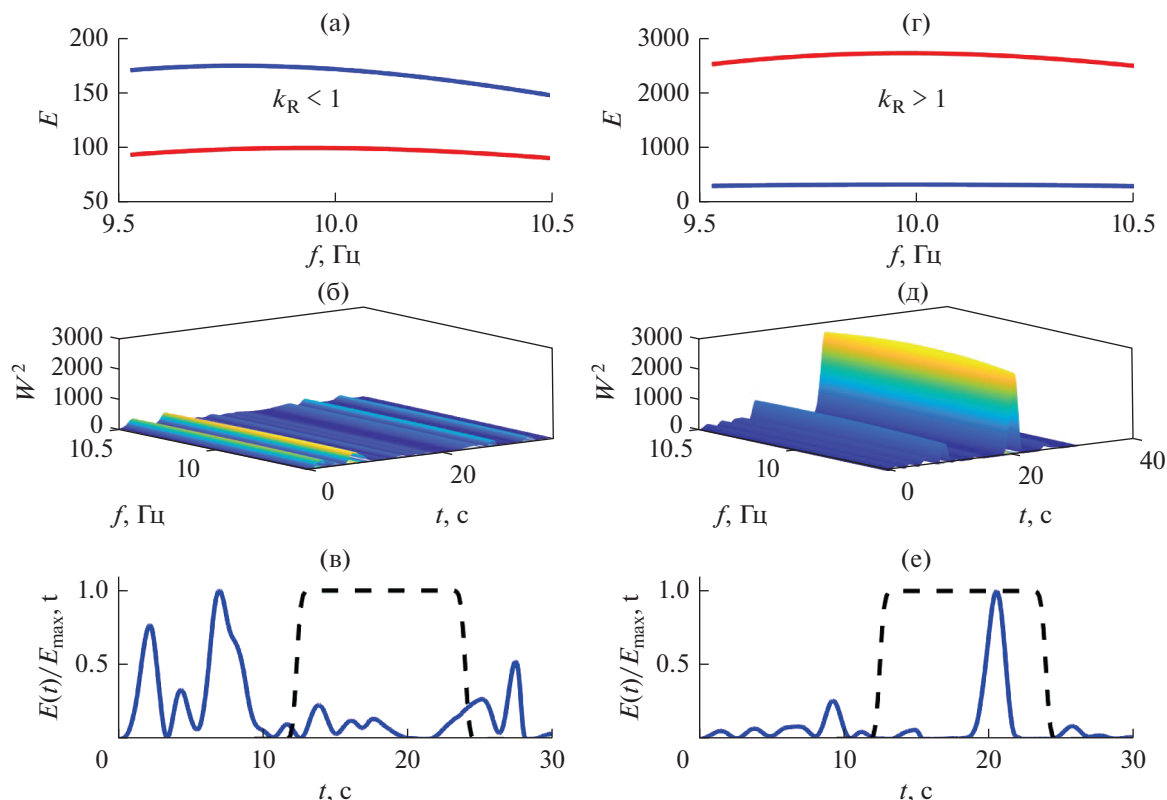
**Рис. 4.** Примеры паттернов ЭЭГ во время фотостимуляции частотой 20 Гц до (а) и после активации функциональных связей мозга (в) (отведение  $O_2$ ). ЭЭГ – синяя кривая, фотостимул – красная кривая. б, г – совместные рекуррентные диаграммы паттернов и световых сигналов.

Локальный вейвлетный спектр демонстрирует наличие максимумов на частотах анализируемого диапазона  $10 \pm 0.5$  Гц в интервале времени, предшествующем времени фотостимуляции (рис. 5б). Нормированные интегральные распределения энергий вейвлетных спектров  $E(t)/E_{\max}(t)$  паттерна ЭЭГ и светового сигнала (сплошная и штрихпунктирная линии соответственно) показывают отсутствие нарастания энергии вейвлетного спектра ЭЭГ во время фотостимуляции (рис. 5в). Глобальный вейвлетный спектр  $E(f)$  этого паттерна во время фотостимуляции также имеет значения меньшие, чем до фотостимуляции (рис. 5а). Соответственно, значение коэффициента усвоения ритма предложенной частоты  $k_R < 1$ . В отличие

от этого, после сеансов активации функциональных связей мозга нарастание энергии вейвлетного спектра ЭЭГ происходит непосредственно в период действия фотостимула (рис. 5е), поэтому максимумы энергии локального вейвлетного спектра находятся в интервале времени, соответствующем времени действия стимула (рис. 5д). Отношение максимумов глобальных вейвлетных спектров во время и до действия фотостимула определяет значение коэффициента усвоения ритма  $k_R > 1$  (рис. 5г). Таким образом, в анализируемых паттернах ЭЭГ, соответствующих состоянию до активации функциональных связей мозга, усвоение частоты 10 Гц отсутствует, а после сеансов активации наблюдается реакция усвоения этой частоты.

**Таблица 3.** Усредненные значения общего числа рекуррентных точек ( $RR$ ) в совместных рекуррентных диаграммах паттернов ЭЭГ и световых сигналов

До активации функциональных связей мозга				После активации функциональных связей мозга		
$f$ (Гц)	$O_1$	$O_2$	$p$	$O_1$	$O_2$	$p$
6	$0.05 \pm 0.005$	$0.04 \pm 0.004$	0.095	$0.06 \pm 0.006$	$0.03 \pm 0.003$	0.086
8	$0.03 \pm 0.003$	$0.05 \pm 0.005$	0.089	$0.02 \pm 0.002$	$0.04 \pm 0.004$	0.085
12	$0.08 \pm 0.008$	$0.07 \pm 0.007$	0.090	$0.05 \pm 0.005$	$0.06 \pm 0.006$	0.094
14	$0.11 \pm 0.01$	$0.13 \pm 0.01$	0.078	$0.02 \pm 0.002$	$0.03 \pm 0.003$	0.096
18	$0.13 \pm 0.01$	$0.15 \pm 0.01$	0.075	$0.03 \pm 0.003$	$0.02 \pm 0.002$	0.096
20	$0.12 \pm 0.01$	$0.17 \pm 0.01$	0.037	$0.04 \pm 0.003$	$0.02 \pm 0.002$	0.089



**Рис. 5.** Отсутствие реакции усвоения частоты 10 Гц в паттерне ЭЭГ (отведение  $O_1$ ) до сеансов активации функциональных связей мозга (а–в) и возникновение реакции усвоения после сеансов (г–е). Глобальные вейвлетные спектры (а, г) до фотостимуляции (сплошная линия), во время фотостимуляции (штрихпунктирная линия). Нормированные интегральные распределения вейвлетных спектров ЭЭГ и световых стимулов (сплошные и штрихпунктирные линии (в, е). Начало и конец фотостимуляции показаны вертикальными стрелками

Для реактивных паттернов ЭЭГ в ответ на фотостимуляцию частотой 6 Гц, полученных до и после лечебных сеансов, характерно наличие реакции усвоения (рис. 6). Об этом свидетельствует превышение максимумов глобальных вейвлетных спектров во время действия фотостимула, по сравнению с величинами этих максимумов до фотостимуляции,  $k_R > 1$  в обоих случаях (рис. 6а, 6г), а также нарастание энергии вейвлетных спектров ЭЭГ именно во время фотостимуляции (рис. 6б–6е).

Динамика изменения усвоения ритма в паттернах ЭЭГ у пациентов с умеренными когнитивными нарушениями после проводимых сеансов подтверждена в работах [8, 46, 47, 71] также изменением одновременных рекуррентностей в совместных рекуррентных диаграммах ЭЭГ и ритмических световых сигналов определенных частот.

*Анализ совместных рекуррентностей паттернов ЭЭГ и ритмических световых сигналов при умеренных когнитивных нарушениях*

На рис. 7а, 7г представлены фотостимул частотой 10 Гц (красной линией) и фрагменты паттерна ЭЭГ длительностью 3 с во время фотостимуляции

(синей линией). Совместные рекуррентные диаграммы для светового сигнала и фрагментов ответов мозга до и после сеансов активации функциональных связей приведены на рис. 7б, 7д соответственно. Совместная рекуррентная диаграмма, полученная до сеансов (рис. 7б) содержит очень короткие диагональные линии, локализованные в окрестности всегда существующей линии, проходящей под углом в  $45^\circ$ . Это соответствует близко к нулю значению показателя  $DET$  и свидетельствует об отсутствии сходства динамики данного светового сигнала и анализируемого ответа.

В отличие от этого, совместная рекуррентная диаграмма после сеансов (рис. 7д) имеет рекуррентные структуры, содержащие длинные диагональные линии. Этой диаграмме соответствует значение показателя  $DET$  близкое к 0,9, что указывает на значительное сходство динамики сигнала возбуждения и отклика мозга. Стрелка на рис. 7 указывает на увеличенный фрагмент совместной рекуррентной диаграммы, построенной для интервала времени, равного 1 с, для того, чтобы показать детально диагональные линии, равноотстоящие друг от друга на время, равное периоду колебаний светового сигнала.

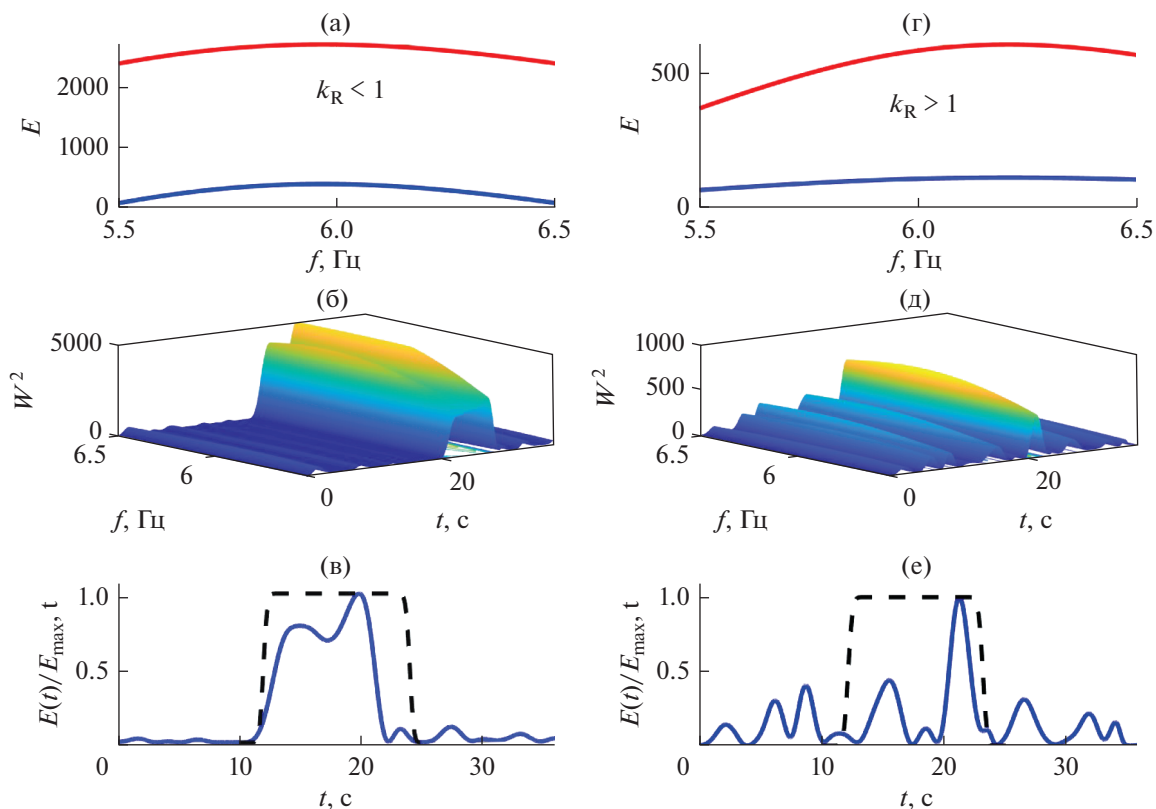


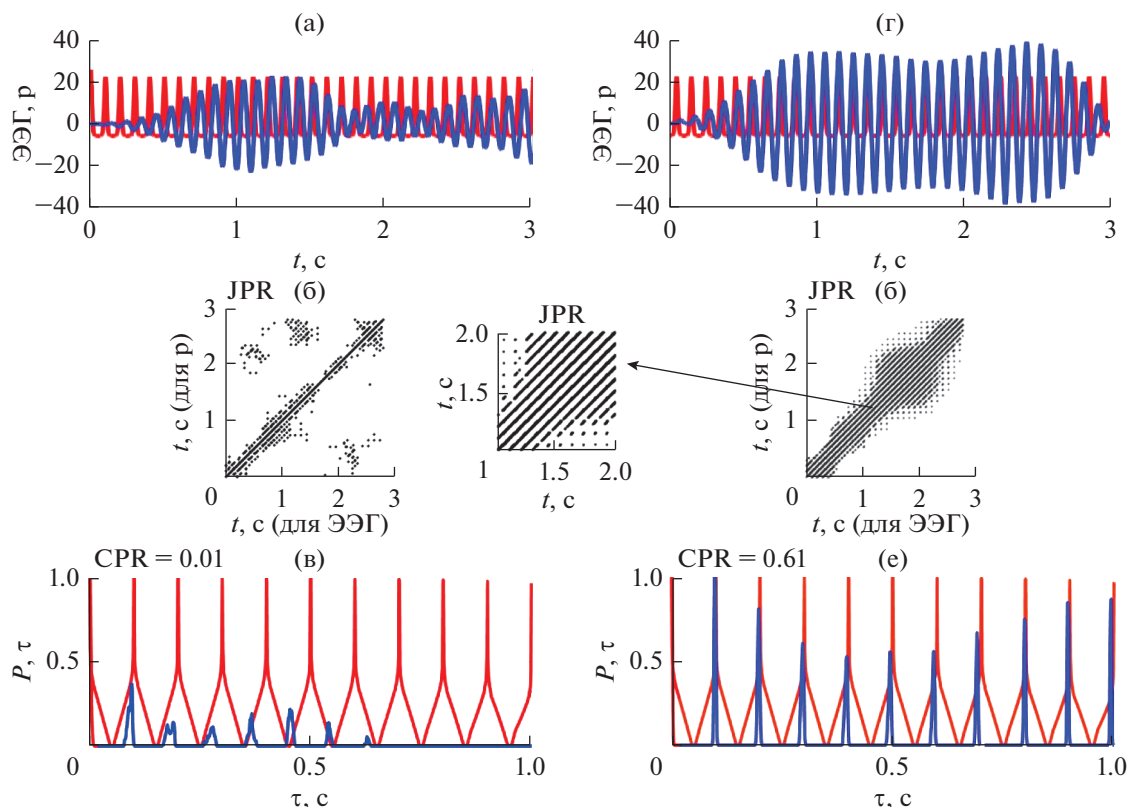
Рис. 6. Наличие реакции усвоения частоты 6 Гц в паттерне ЭЭГ (отведение  $O_2$ ) до сеансов активации функциональных связей мозга (а–в) и после сеансов (г–е).

Рис. 7в иллюстрирует отсутствие совпадения максимумов вероятностей рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  для фазовых траекторий светового сигнала и ответа мозга, а рис. 7е – наличие такого совпадения в моменты времени  $kt$ , где  $k$  – целое число,  $t = 0.1$  с (соответствует периоду колебаний светового сигнала частотой 10 Гц). Совпадение положений максимумов вероятностей рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  означает возникновение одновременных рекуррентностей в анализируемом фрагменте ЭЭГ и световом сигнале заданной частоты. В этом случае значение коэффициента взаимной корреляции  $CPR = 0.61$  (рис. 7е). В случае отсутствия совпадения максимумов вероятностей рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  для фазовых траекторий светового сигнала и ответа мозга значение коэффициента взаимной корреляции  $CPR = 0.01$  (рис. 7в). Таким образом, рис. 7 представляет пример возникновения фазовой синхронизации во фрагменте ЭЭГ и световом стимуле частотой 10 Гц после примененных воздействий.

На рис. 8а, 8г представлены фрагменты ЭЭГ длительностью 6 с во время фотостимуляции и фотостимул частотой 6 Гц до и после сеансов активации функциональных связей мозга. Совместные рекуррентные диаграммы для сигнала светового возбуждения и фрагментов отклика мозга до и

после этих сеансов показаны на рис. 8б, 8г. Совместная рекуррентная диаграмма, полученная до сеансов (рис. 8б), содержит длинные диагональные линии, соответствующие близкому к 0.95 значению показателя  $DET$  и свидетельствующие о значительном сходстве динамики сигнала возбуждения и ответа мозга. Положения максимумов вероятностей рекуррентностей  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  для фазовых траекторий светового сигнала и ответа мозга при этом совпадают (рис. 8в) в моменты времени  $kt$ , где  $t = 0.17$  с, что соответствует периоду колебаний сигнала фотостимуляции частотой 6 Гц. Значение коэффициента взаимной корреляции  $CPR = 0.69$  (рис. 8в). Это свидетельствует о наличии фазовой синхронизации в анализируемом фрагменте ЭЭГ и световом сигнале заданной частоты.

Для фрагмента ЭЭГ, полученного после сеансов активации функциональных связей мозга и светового сигнала частотой 6 Гц (рис. 8г), совместная рекуррентная диаграмма содержит только изолированные точки (рис. 8д), значение коэффициента взаимной корреляции  $CPR = 0.004$  (рис. 8е). Это говорит о том, что в анализируемом фрагменте фазовая синхронизация между сигналом возбуждения и откликом отсутствует. Таким образом, рис. 8 представляет пример отсутствия фазовой синхронизации во фрагменте паттерна ЭЭГ и све-



**Рис. 7.** Фрагменты ЭЭГ длительностью 3 с во время фотостимуляции (синяя линия) и световой стимул частотой 10 Гц (красная линия) до и после сеансов активации функциональных связей мозга (а, г). Совместные рекуррентные диаграммы (б, д). Вероятности  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  рекуррентностей для ЭЭГ (синяя кривая) и светового сигнала (красная кривая) (в, е).

товом стимуле частотой 6 Гц после проведенных сеансов активации функциональных связей мозга.

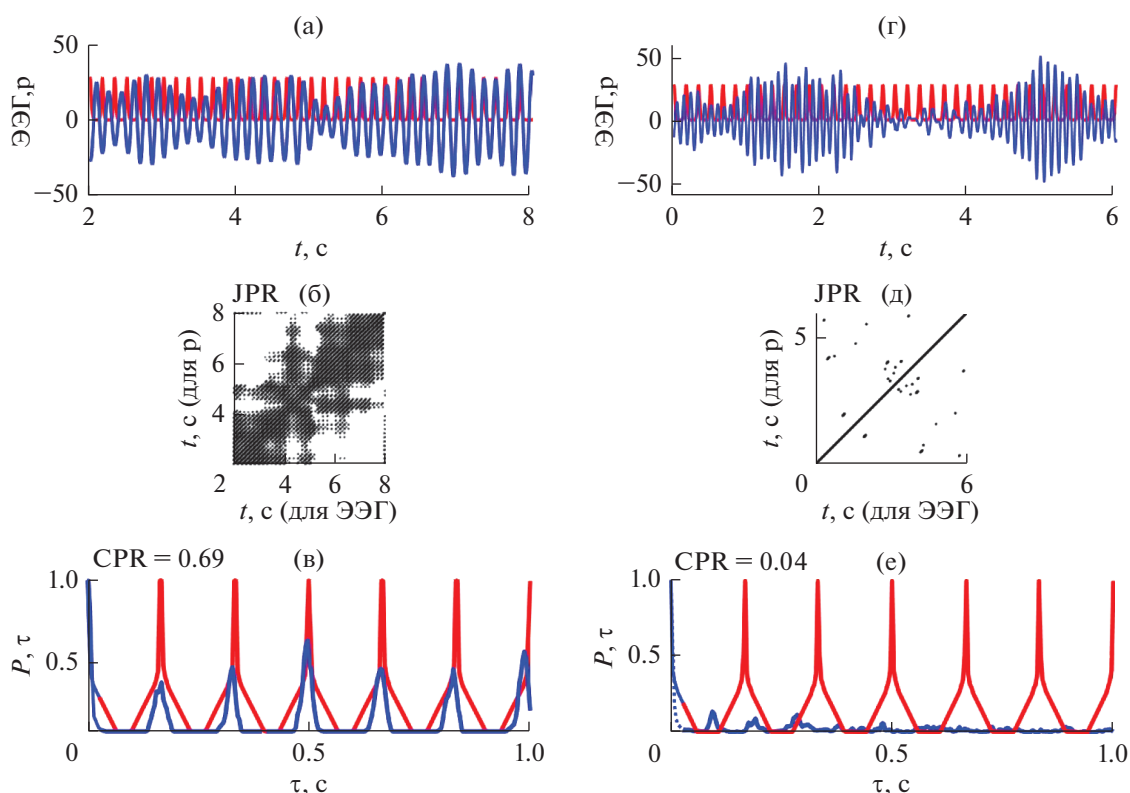
Средние значения показателей реакции усвоения до и после сеансов активации функциональных связей мозга приведены в табл. 4. В связи с отсутствием статистически значимых отличий в значениях показателей для разных затылочных локусов ЭЭГ, в табл. 4 приводятся результаты, полученные для затылочного локуса  $O_1$ .

Данные табл. 4 показывают, что усвоение частоты фотостимула 16 Гц отсутствует как до, так и после проводимых сеансов (значение коэффициента усвоения ритма  $k_R < 1$ , процент рекуррентных точек, расположенных на диагональных линиях  $DET < 0.7$ , коэффициент взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей светового сигнала и ответа мозга  $CPR < 0.1$ , значение F-критерия Фишера  $F < F_{crit} = 4.1$  и уровня значимости этого критерия  $p > 0.05$  для всех рассмотренных показателей).

Для частоты светового возбуждения 6 Гц до проводимых сеансов среднее значение коэффициента усвоения ритма  $k_R = 43 \pm 3.7$ , процент рекуррентных точек, расположенных на диагональных линиях  $DET = 0.87 \pm 0.07$ , среднее значение

коэффициента взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей светового сигнала и ответа мозга  $CPR = 0.49 \pm 0.05$ , а после сеансов средние значения этих показателей уменьшаются до  $k_R = 7 \pm 0.6$ ,  $DET = 0.51 \pm 0.05$  и  $CPR = 0.08 \pm 0.009$ . Попарное сравнение средних значений анализируемых показателей вейвлетных спектров и совместных рекуррентных диаграмм до и после сеансов показывает, что значения статистики Фишера  $F > F_{crit} = 4.1$  и соответствуют малым значениям уровня значимости  $p$  ( $p < 0.02$ ). Это свидетельствует о наличии достоверных различий между средними значениями рассмотренных показателей для частоты фотостимула 6 Гц до и после проводимых сеансов.

Для частоты светового возбуждения 10 Гц, наоборот, после проводимых сеансов средние значения коэффициента усвоения ритма, процента рекуррентных точек, расположенных на диагональных линиях и коэффициента взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей светового сигнала и ответа мозга увеличиваются до величин  $k_R = 28 \pm 2.6$ ,  $DET = 0.97 \pm 0.09$  и  $CPR = 0.64 \pm 0.06$ , по сравнению со средними значениями до этих сеансов  $k_R < 1$ ,  $DET = 0.53 \pm 0.06$



**Рис. 8.** Фрагменты ЭЭГ длительностью 6 с во время фотостимуляции и световой стимул частотой 6 Гц до и после сеансов активации функциональных связей мозга (а, г). Совместные рекуррентные диаграммы этих сигналов (б, д) и вероятности  $P_1(\tau)$  и  $P_2(\tau)$  рекуррентностей (в, е).

и  $CPR = 0.05 \pm 0.005$ . Значения критерия Фишера  $F > F_{crit} = 4.1$  и уровня значимости  $p < 0.02$  демонстрируют наличие достоверных различий между средними значениями рассмотренных показателей для частоты фотостимуляции 10 Гц до и после проводимых сеансов.

Таким образом, оба метода, вейвлетного и рекуррентного анализа, указывают на то, что для пациентов с умеренными когнитивными наруше-

ниями после сеансов, направленных на формирование функциональных связей мозга человека, отмечается повышение показателей реакции усвоения ритма частоты возбуждения альфа-диапазона и уменьшается значение этих показателей для частоты возбуждения тета-диапазона.

Уменьшение значений рассмотренных показателей свидетельствует о снижении или даже исчезновении сходства динамического поведения стиму-

**Таблица 4.** Усредненные значения коэффициентов усвоения ( $k_R$ ) ритма заданной частоты, показателя детерминизма ( $DET$ ) в совместных рекуррентных диаграммах паттернов ЭЭГ и световых сигналов и показателя фазовой синхронизации ( $CPR$ ), значения критерия Фишера ( $F$ ) и уровня значимости критерия ( $p$ )

$f$ (Гц)	До сеансов активации функциональных связей мозга	После сеансов активации функциональных связей мозга	$F$	$p$
Коэффициент усвоения ритма заданной частоты ( $k_R$ )				
6	$43 \pm 3.7$	$7 \pm 0.6$	467	0.005
10	<1	$28 \pm 2.6$	609	0.0004
16	<1	<1	2.6	0.87
Показатель детерминизма ( $DET$ )				
6	$0.87 \pm 0.07$	$0.51 \pm 0.05$	197	0.01
10	$0.53 \pm 0.06$	$0.97 \pm 0.09$	208	0.01
16	$0.67 \pm 0.07$	$0.56 \pm 0.05$	3.9	0.75
Коэффициент взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей ( $CPR$ )				
6	$0.49 \pm 0.05$	$0.08 \pm 0.009$	401	0.003
10	$0.05 \pm 0.005$	$0.64 \pm 0.06$	377	0.002
16	$0.06 \pm 0.006$	$0.05 \pm 0.006$	2.8	0.91

ла и ответа мозга на него. При этом фазовая синхронизация между откликом мозга и фотостимулом до сеансов наблюдается только для частоты возбуждения тета-диапазона, а после этих сеансов — для частоты возбуждения альфа-диапазона.

Как известно, выраженность перестроек электрической активности мозга в соответствии с частотой, равной или кратной частоте световых импульсов, определяется возбудимостью нейронов коры головного мозга, зависящей от соотношения синхронизирующих и десинхронизирующих процессов [3]. В связи с этим мозг здорового человека или человека с нарушениями функционального состояния центральной нервной системы по-разному реагирует на фотостимуляцию, т.е. по-разному воспроизводит ритмы частот бета-, тета- или альфа-диапазонов [43, 44].

Например, количественные показатели реакции усвоения при нарушениях функционального состояния центральной нервной системы, связанных с сосудистой патологией мозга различной степени выраженности, статистически значимо отличаются от показателей, определенных для здорового человека [5, 6, 43, 44]. По мере нарастания проявлений сосудистой патологии от вегетососудистой дистонии к гипертонической болезни и вертебрально-базилярной недостаточности отмечается повышение показателей реакции усвоения частот фотостимуляции [45].

Для здорового человека, как правило, значение коэффициента усвоения ритма меньше единицы или близко к единице, т.е. для него характерна незначительная реакция усвоения ритма световых импульсов в альфа-диапазоне [44]. Расширение диапазона усвоения ритма в сторону тета- или бета-диапазонов и межполушарная асимметрия реакции усвоения ритма связываются с возникновением невротизации пациента, т.е. с повышением уровня его психоэмоциональной возбудимости, и считаются критериями патологии при оценке реакции фотостимуляции [5, 45, 48].

Увеличение показателей реакции усвоения ритма частот тета-диапазона показано в реактивных паттернах ЭЭГ больных с нарушениями сердечного ритма в форме фибрилляции предсердий, причем по мере нарастания проявлений этих нарушений от времени существования мерцательной аритмии, т.е. при переходе от пароксизмальной формы аритмии в постоянную, значение коэффициента усвоения ритма в тета-диапазоне десятикратно возрастает, в то время как в альфа-диапазоне это значение существенно уменьшается, что, вероятно, связано с преобладанием процессов торможения в нервной системе этих пациентов [5, 46].

Отсутствие или незначительность реакции усвоения ритма в диапазоне тета- и бета-частот на фоне слабого усвоения альфа-ритма у здорового

человека отражает сбалансированность процессов возбуждения и торможения и преобладание внутренней синхронизации нейронных структур при навязывании внешнего ритма [24, 25]. Повышение показателей реакции усвоения ритмов фотостимуляции связано, как правило, с повышением неустойчивости внутренней синхронизации нейронных ансамблей и усилением их внешней синхронизации [6, 32, 33].

Усиление реакции усвоения в альфа-диапазоне и ослабление в тета-диапазоне указывает на улучшение функционального состояния коры больших полушарий и улучшение ее регуляторных механизмов. Снижение степени невротизации пациентов с невротическими расстройствами в виде панических атак после сеансов, направленных на формирование функциональных связей мозга, отражается в уменьшении количественных показателей реакции усвоения ритмов фотостимуляции бета-диапазона и связано с понижением возбудимости нейронов коры больших полушарий [7, 46].

В случае умеренных когнитивных нарушений повышение количественных показателей реакции усвоения ритма частоты альфа-диапазона, вероятно, связано с повышением возбудимости и лабильности корковых нейронов после проведенных сеансов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе продемонстрирована возможность исследования динамики паттернов электрической активности мозга при таких дезадаптационных нарушениях, как тревожно-фобические расстройства, панические атаки и умеренные когнитивные нарушения, с помощью методов вейвлетного, мультифрактального и рекуррентного анализа.

Показано, что коррекция психогенной боли при тревожно-фобических состояниях связана с изменением динамики последовательных значений ЭЭГ и снижением степени их мультифрактальности.

Анализ изменений реакции усвоения ритмов фотостимуляции и определение количественных характеристик этой реакции, вычисленных до и после сеансов терапии, связанных с воздействием, направленным на активацию функциональных связей мозга у лиц с паническими атаками и умеренными когнитивными нарушениями, позволяет выявить объективные показатели улучшения функционального состояния нервной системы после этих сеансов. К таким показателям относятся коэффициент усвоения ритма заданной частоты возбуждения, вычисленный на основе вейвлетного анализа реактивных паттернов ЭЭГ, и коэффициент взаимной корреляции между вероятностями рекуррентностей светового сигнала и



ответа мозга на определенные частоты, вычисленный на основе анализа совместных рекуррентных диаграмм ритмических световых сигналов и ответов мозга на эти сигналы.

Рассмотренные результаты являются еще одним доказательством высокой чувствительности примененных методов анализа вейвлетных спектров и показателей совместных рекуррентных диаграмм к выявлению динамических изменений, происходящих в реактивных паттернах биоэлектрической активности мозга в ответ стимулирующие воздействия.

Эти результаты могут быть использованы в клинике для достоверного нахождения улучшения функционального состояния головного мозга пациентов с дезадаптационными нарушениями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы РФ 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019–2030), подпрограмма “Фундаментальные научные исследования для долгосрочного развития и обеспечения конкурентоспособности общества и государства” (47\_110\_ДРиОК).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Антипенко Е.А.* Антиоксидантная терапия при дисциркуляторной энцефалопатии // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2010. № 110. С. 53.
2. *Дик О.Е., Глазов А.Л.* Применение анализа совместных рекуррентностей к оценке фазовой синхронизации физиологических сигналов // Журн. технической физики. 2021. Т. 91. Вып. 12. С. 2045–2058.
3. *Дик О.Е., Святогор И.А., Ишинова В.А., Ноздрачев А.Д.* Фрактальные характеристики функционального состояния мозга у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами // Физиология человека. 2012. Т. 38. С. 30–36.
4. *Дик О.Е.* Вейвлет и мультифрактальный анализ реакции мозга человека на ритмическую фотостимуляцию при сосудистой патологии // XVIII Всероссийская научно-техническая конференция с межд. участием Нейроинформатика-2016, 25–29 апреля 2016 НИЯУ МИФИ: Сб. научных трудов в 3-х частях. Ч. 3. М.: НИЯУ МИФИ. 2016. С. 12–20.
5. *Дик О.Е., Ноздрачев А.Д.* Динамика паттернов электрической активности мозга при нарушении его функционального состояния // Успехи физиологических наук. 2020. Т. 51. № 2. С. 1–20.
6. *Дик О.Е., Святогор И.А., Дик О.Е. и др.* Анализ реактивных паттернов ЭЭГ у лиц с фибрилляцией предсердий // Физиология человека. 2019. Т. 45. С. 49–63.
7. *Дик О.Е., Ноздрачев А.Д.* Механизмы изменения динамической сложности паттернов физиологических сигналов (научная монография). СПб.: Изд-во Санкт-Петербургского университета, 2019. 200 с. ISBN 978-5-288.
8. *Дик О.Е., Святогор И.А., Резникова Т.Н. и др.* Анализ паттернов ЭЭГ у лиц с паническими атаками // Физиология человека. 2020. Т. 46. № 2. С. 63.
9. *Дик О.Е., Глазов А.Л.* Параметры фазовой синхронизации в электроэнцефалографических паттернах как маркеры когнитивных нарушений // Журн. технической физики. 2021. Т. 91. Вып. 4. С. 678–688.
10. *Добеши И.* Десять лекций по вейвлетам. Ижевск: НИЦ Регулярная и стохастическая динамика, 2001. 115 с.
11. *Дремин И.М., Иванов О.В., Нечитайло В.А.* Вейвлеты и их использование // Успехи физических наук. 2001. Т. 171. С. 465–501.
12. *Дробижнев М.Ю., Макух Е.А., Дзантиева А.И.* Когнитивные расстройства в общей медицине // Лечащий врач. 2007. № 8. С. 35.
13. *Ишинова В.А., Святогор И.А.* Цветовое отражение боли у пациентов с тревожно-фобическими расстройствами // Вестник С.-Пб. гос. Мед. Акад. им Мечникова. СПб. 2009. Т. 31. С. 198–199.
14. *Луговая А.М.* Способ коррекции психоэмоционального состояния по методу А.М. Луговой. Патент РФ N 2313282. 2007. 22 с.
15. *Новикова И.А., Соловьев А.Г., Местечко В.В.* Особенности эмоциональной сферы лиц пожилого возраста с пограничными психическими расстройствами // Медицинская психология в России: электрон. науч. журн. 2014. № 4. С. 27.
16. *Павлов А.Н., Анищенко В.С.* Мультифрактальный анализ сложных сигналов // Успехи физических наук. 2007. Т. 177. С. 859.
17. *Парфенов В.А.* Лечение постинсультных когнитивных нарушений // Русский медицинский журнал. 2010. № 16. С. 986.
18. *Резникова Т.Н., Краснов А.А., Селиверстова Н.А. и др.* Исследование “внутренней картины болезни” у больных с органической и функциональной патологией ЦНС в процессе лечебных активаций методом артифициальных стабильных функциональных связей мозга человека // Вестник Клинической психологии. 2004. Т. 2. № 1. С. 84.
19. *Резникова Т.Н., Федоряка Д.А., Селиверстова Н.А., Моховикова И.А.* Опыт использования сенсорной импульсной стимуляции у больных с паническими атаками // Вестник психотерапии. 2018. № 68. С. 47.
20. *Резникова Т.Н., Селиверстова Н.А.* О коррекции психического состояния немедикаментозным способом при рассеянном склерозе // Клиническая и специальная психология // 2019. Т. 8. № 1. С. 177.
21. *Резникова Т.Н., Селиверстова Н.А., Дик О.Е. и др.* Оценка психофизиологического состояния у пожилых лиц с умеренными когнитивными нарушениями при сенсорных импульсных стимуляциях // Психическое здоровье. 2020. № 9. С. 12–18.
22. *Русинов В.С., Гриндель О.М., Болдырева Г.Н., Вакар Е.М.* Биопотенциалы мозга человека. Математический анализ. М.: Медицина, 1987. 254 с.
23. *Святогор И.А.* Классификация ЭЭГ паттернов и их нейрофизиологическая интерпретация при дезадаптационных расстройствах // Биологич. Обратная Связь. 2000. Т. 3. С. 10–19.
24. *Святогор И.А., Резникова Т.Н., Петухова Н.В.* Динамика психофизиологического состояния в процессе лечения методом артифициальных стабиль-

- ных функциональных связей // Биологическая обратная связь. 2001. № 4. С. 24.
25. *Святогор И.А., Гусева Н.Л.* ЭЭГ-реакция усвоения ритма в норме и при нарушении функционального состояния центральной нервной системы // Вестник клинической нейрофизиологии. 2014. Т. 1. С. 13–19.
  26. *Святогор И.А., Дик О.Е., Ноздрачев А.Д. и др.* Анализ изменений ЭЭГ-паттернов в ответ на ритмическую фотостимуляцию при различных нарушениях функционального состояния ЦНС // Физиология человека. 2015. Т. 41. С. 41–49.
  27. *Серов Н.В.* Световая терапия. Смысл и значение цвета информация—цвет—интеллект. СПб.: Речь. 2002. 160 с.
  28. *Смирнов В.М., Резникова Т.Н., Губачев Ю.М.* Аргументы стабильные функциональные связи и нейро-регуляторная коррекция психоэмоциональных расстройств // Физиол. чел. 1987. Т. 13. № 5. С. 715–722.
  29. *Смирнов В.М., Бородин Ю.С., Резникова Т.Н.* Свойство мозга человека в условиях активации подкорковых структур формировать комплекс устойчивых внутримозговых функциональных связей. В кн.: Научные открытия (Сборник кратких описаний). М.-СПб., 1999. Вып. 1. С. 23–26.
  30. *Старчина Ю.А.* Когнитивные нарушения и их лечение у пациентов с артериальной гипертензией // Consilium medicum. 2009. № 1. С. 1.
  31. *Табеева Г.Р.* Когнитивные и некогнитивные расстройства у пациентов пожилого возраста, ассоциированные со стрессом // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2015. № 1. С. 87.
  32. *Федотчев А.И., Бондарь А.Т., Акоев И.Г.* Резонансные ЭЭГ – реакции при ритмических световых воздействиях разной интенсивности и частоты // Журн. ВНД. 2001. Т. 51. № 1. С. 17–23.
  33. *Федотчев А.И., Бондарь А.Т., Матрусов С.Г. и др.* Использование сигналов обратной связи от эндогенных ритмов пациента для нелекарственной коррекции функциональных расстройств // Успехи физиол. наук. 2006. Т. 37. № 4. С. 82–92.
  34. *Arneodo A., Vacry E., Muzy J.F.* The thermodynamics of fractals revisited with wavelets // Physica A. 1995. V. 213. P. 232–275.
  35. *Bass C., Pevele R., House A.* Somatoform disorders: severe psychiatric illnesses neglected by psychiatrists // British J. Psychiatry. 2001. V. 179. C. 11–14.
  36. *Batelaan N.M., Van Balkom A.J., Stein D.J.* Evidence-based pharmacotherapy of panic disorder: An update // Intern. J. neuropsychopharmacology. 2012. V. 15. № 3. P. 403–415.
  37. *Bierman E.J.M., Comijs H.C., Rijmen F. et al.* Anxiety symptoms and cognitive performance in later life: results from the longitudinal aging study // Aging Ment Health. 2008. V. 12. № 4. P. 517.
  38. *Bosnyakov D., Gabova A., Kuznetsova G. et al.* Time-frequency analysis of spike-wave discharges using a modified wavelet transform // J. Neurosci. Methods. 2006. V. 165. P. 80–88.
  39. *Borodina U.V., Aliev R.R.* Wavelet spectra of visual evoked potentials; time course of delta, theta, alpha and beta bands // Neurocomputing. 2013. V. 121. P. 551–555.
  40. *Bozhokin S.V., Suvorov N.B.* Wavelet analysis of transient processes in EEG photic // Biomed. Electron. 2008. V. 3. P. 13–19.
  41. *Cosci F.* The psychological development of panic disorder: implications for neurobiology and treatment // Rev Bras Psiquiatr. 2012. V. 34. P. 9–31.
  42. *Dick O.E., Mochovikova I.A.* Multifractal and wavelet analysis of epileptic seizures // Chaos Theory: Modeling, Simulation and Applications, Selected Papers from the 3rd Chaotic Modeling and Simulation Intern. Conference / C.H. Skiadas, I. Dimotikalis and C. Skiadas (Eds). World Scientific Publishing. 2011. P. 159–166.
  43. *Dick O.E., Svyatogor I.A.* Potentialities of the wavelet and multifractal techniques to evaluate changes in the functional state of the human brain // Neurocomputing. 2012. V. 82. P. 207–215.
  44. *Dick O.E.* Wavelet analysis of the human brain lability to reproduce the external rhythm // J. Chaotic Modeling and Simulation. 2013. V. 3. P. 387–394.
  45. *Dick O.E., Svyatogor I.A.* Wavelet and multifractal estimation of the intermittent photic stimulation response in the electroencephalogram of patients with dyscirculatory encephalopathy // Neurocomputing. 2015. V. 165. P. 361–374.
  46. *Dick O.E.* Nonlinear dynamics of reactive EEG patterns under cerebrovascular and cardiovascular distortions // J. Chaotic Modeling and Simulation. 2017. V. 4. P. 501–512.
  47. *Dick O.E.* Wavelet and recurrence analysis of EEG patterns of subjects with panic attacks // Studies in Computational Intelligence. 2020. V. 856. P. 172.
  48. *Dick O.E., Glazov A.L.* Estimation of the synchronization between intermittent photic stimulation and brain response in hypertension disease by the recurrence and synchrosqueezed wavelet transform // Neurocomputing. 2021. V. 455. P. 163–177.
  49. *Fedotchev I., Bondar A.T., Aкоеv I.G.* Dynamic characteristics of the human resonance EEG responses to rhythmic photostimulation // Human Physiology. 2000. V. 26. № 2. P. 64–72.
  50. *Fraser A.M., Swinney H.L.* Independent coordinates for strange attractors from mutual information // Phys. Rev. 1986. V. 33. № 2. P. 1134–1140.
  51. *Hramov A.E., Koronovsky A.A., Makarov V.A. et al.* Wavelets in neuroscience. Springer Series in Synergetics. Berlin: Springer, 2015. 314 p.
  52. *Gallacher R.* Early stage dementia // Nursing Standard. 2014. V. 28. № 20. P. 61.
  53. *Goddard A.W., Mason G.F., Appel M. et al.* Impaired GABA neuronal response to acute benzodiazepine administration in panic disorder // Am. J. Psychiatry. 2004. V. 161. № 12. P. 2186–2193.
  54. *Ishinova V.A., Svyatogor I.A., Reznikova T.N.* Features of color reflection in psychogenic pain in patients with somatoform disorders during psychotherapeutic treatment // Spanish J. Psychology. 2009. V. 12. P. 715–724.
  55. *Kennel M.B., Brown R., Abarbanel H.D.* Determining embedding dimension for phase-space reconstruction using a geometrical construction // Phys. Rev. A. 1992. V. 45. № 6. P. 3403.
  56. *Kurths J., Romano M.C., Thiel M. et al.* Synchronization analysis of coupled noncoherent oscillators // Nonlinear Dynamics. 2006. V. 44. P. 135.

57. *Marwan N., Wessel N., Meyerfeldt U. et al.* Recurrence plot based measures of complexity and its application to heart rate variability data // *Physical Review E*. 2002. V. 66. P. 26702–26710.
58. *Marwan N., Kurths J.* Nonlinear analysis of bivariate data with cross recurrence plots // *Physics Letters A*. 2002. V. 302. P. 299–307.
59. *Marwan N., Romano M.C., Thiel M. et al.* Recurrence plots for the analysis of complex systems // *Physics Reports*. 2007. V. 438. P. 237–329.
60. *Milrod B., Busch F., Leon A C. et al.* A pilot open trial of brief psychodynamic psychotherapy for panic disorder // *J. Psychother. Pract. Res*. 2001. V. 10. P. 239–245.
61. *Muzy J.F., Bacry E., Arneodo A.* Multifractal formalism for fractal signals: the structure–function approach versus the wavelet–transform modulus–maxima method // *Phys. Rev. E*. 1993. V. 47. P. 875–884.
62. *Natarajan K., Acharya R., Alias F. et al.* Nonlinear analysis of EEG signals at different mental states // *Bio-Medical Engineering*. 2004. V. 3. P. 7–18.
63. *Nutt D.* Anxiety disorders comorbid with depression: panic disorder and agoraphobia / D. Nutt, A. Feeney, S. Argyropoulos. Martin Dunitz Ltd. 2002. 110 p.
64. *Popivanov D., Stomonyakov V., Minchev Z. et al.* Multifractality of decomposed EEG during imaginary and real visual–motor tracking // *Biological Cybernetics*. 2006. V. 94. P. 149–156.
65. *Qianli M.A., Xinba N., Jun W. et al.* A new measure to characterize multifractality of sleep electroencephalogram // *Chinese Science Bulletin*. 2006. V. 51. P. 3059–3064.
66. *Qureshi S.U., Long M.E., Bradshaw M.R. et al.* Does PTSD impair cognition beyond the effect of trauma? // *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci*. 2011. V. 23. № 1. P. 16.
67. *Rangaprakash D., Pradhan N.* Study of phase synchronization in multichannel seizure EEG using nonlinear recurrence measure // *BioMedical Signal Processing and Control*. 2014. V. 11. P. 114–112.
68. *Romano M.C., Thiel M., Kurths J. et al.* Detection of synchronization for non-phase-coherent and non-stationary data // *Europhysics Letters*. 2005. V. 71. P. 466.
69. *Senhadji L., Wendling F.* Epileptic transient detection: wavelets and time–frequency approaches // *Neurophysiol. Clin*. 2002. V. 32. P. 175–192.
70. *Sullivan G.M., Coplan J.D., Kent J.M. et al.* The noradrenergic system in pathological anxiety: a focus on panic with relevance to generalized anxiety and phobias // *Biol. Psychiatry*. 1999. V. 46. № 9. P. 1205–1218.
71. *Takens F.* Detecting strange attractors in turbulence / In: *Dynamical Systems and Turbulence, Lecture Notes in Mathematics* / D. Rand, L.S. Young, eds. Berlin: Springer, 1981. V. 898. P. 366–381.
72. *Titov V.E., Dick O.E.* Computational evaluation of the effectiveness of therapy method with help recurrent analysis // *J. Physics: Conference Series*. 2021. V. 1889. P. 42092–42098.
73. *Westenberg H.G., Liebowitz M.R.* Overview of panic and social anxiety disorders // *J. Clin. Psychiatry*. 2004. V. 65. Suppl. 14. P. 22–26.
74. *Wilson K.A., Hayward C.* A prospective evaluation of agoraphobia and depression symptoms following panic attacks in a community sample of adolescents // *J. Anxiety Disord*. 2005. V. 19. № 1. P. 87–103.
75. *Wink A.M., Bullmore E., Barnes A. et al.* Monofractal and multifractal dynamics of low frequency endogenous brain oscillations in functional MRI // *Human Brain Mapping*. 2008. V. 29. P. 791–801.
76. *Xu Y., Ma Q.D.Y., Schmitt D.T. et al.* Effects of coarse-graining on the scaling behavior of long-range correlated and anti-correlated signals // *Physica A*. 2011. V. 390. P. 4057–4072.
77. *Yamamoto M.* Fluctuations observed in biological time series signals and their functional significance // *Front. Med. Biol. Eng.* 1991. V. 3. P. 135–137.
78. *Yu S.T., Kim M.K., Kim B. et al.* The Effects of 5-HT<sub>1A</sub> Polymorphism on Cingulum Connectivity in Patients with Panic Disorder // *Psychiatry Investig.* 2013. V. 10. № 4. P. 399–406.

## Dynamics of Patterns of Electric Brain Activity for Deadaptation Disorders

O. E. Dick\*

*Pavlov Physiology Institute RAS, St. Petersburg, 199034 Russia*

*\*e-mail: dickviola@gmail.com*

**Abstract**—The review is devoted to the application of methods of wavelet, multifractal and recurrent analysis to the study of changes in the patterns of electrical activity of the human brain, recorded in the form of an electroencephalogram in deadaptation disorders associated with anxiety-phobic disorders, panic attacks and moderate cognitive impairments. The possibility of using these methods for identifying objective indicators of the correction of psychogenic pain in anxiety-phobic states and improving the functional state of the nervous system after stimulating action aimed at activating the functional connections of the brain in persons with panic attacks and moderate cognitive impairment has been shown.

**Keywords:** EEG, wavelet analysis, joint recurrence, multifractality, panic attacks, moderate cognitive impairments

УДК 612.8.02+612.825

## ГАМК Б ТОРМОЖЕНИЕ ЧЕРЕЗ ОБРАТНЫЕ СВЯЗИ УЧАСТВУЕТ В СИНХРОНИЗАЦИИ ИНТЕРИКТАЛЬНЫХ СПАЙКОВ В КОРЕ

© 2022 г. В. Г. Марченко<sup>а, \*</sup>, М. И. Зайченко<sup>а, \*\*</sup>

<sup>а</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, 117485 Россия

\*e-mail: vgmarchenko3@gmail.com

\*\*e-mail: mariya-zajchenko@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.01.2021 г.

После доработки 03.04.2021 г.

Принята к публикации 18.05.2021 г.

Исследования, проведенные в последнее время, значительно расширили представления о функциях ГАМКергических интернейронов в нейронных сетях коры. Интернейроны определенного класса участвуют в генерации интериктальной активности в коре не только при некоторых формах патологии, но и в условиях, когда торможение осуществлялось преимущественно через ГАМК Б рецепторы. Интериктальная активность представляет собой спайки огромной амплитуды, когда за короткой возбудительной фазой следует длительная тормозная фаза, возникающая почти одновременно в разных участках коры. Спайк большой амплитуды отражает синхронное действие возбудительных нейронов в локальном участке, а синхронная активность в отдаленных участках определяется обратными связями между пирамидными клетками и интернейронами, когда активность большой массы нейронов происходит одновременно в течение узкого временного интервала. В процессе синхронизации интериктальных спайков принимают участие клетки Мартинотти, а также парвалбуминовые, нейроглиаформные и экспрессирующие вазоактивный интестинальный пептид интернейроны, которые, как показывают экспериментальные данные, осуществляют торможение и посредством ГАМК Б рецепторов. В настоящее время известно несколько механизмов синхронизации активности нейронов в нейронных сетях коры: посредством электрических связей, объемного проведения, синаптических обратных связей как между пирамидными нейронами и интернейронами, так и между самими интернейронами. Мы предполагаем, что механизм синхронизации интериктальных спайков в корковых нейронных сетях действует следующим образом. По-видимому, этот механизм одинаково работает в локальных нейронных сетях и на расстоянии. При возникновении возбуждения вслед за ним по обратной связи начинается торможение, которое ограничивает период возбуждения и таким образом создается временное окно интеграции, и это так же происходит в соседних нейронных сетях коры. На начальном этапе амплитуда интериктальных спайков невелика и не одновременна в разных участках коры. В дальнейшем все больше и больше пирамидных нейронов становятся активны в период действия временного окна, и таким образом увеличивается амплитуда интериктального спайка, а, следовательно, усиливается торможение. В конечном итоге усилившееся торможение за счет обратных связей начинает воздействовать на соседние нейронные сети и таким образом интериктальные спайки возникают почти одновременно в разных частях коры. При этом наблюдается значительное удлинение торможения после спайка, так как к собственному торможению в нейронной сети добавляется торможение от соседей по обратным тормозным связям.

**Ключевые слова:** синхронизация, обратное торможение, ГАМК, интериктальные спайки, обратные связи, кора

DOI: 10.31857/S0301179822010064

### ВВЕДЕНИЕ

На наш взгляд синхронизация электрической активности является отражением процессов интеграции в нейронных сетях коры, когда в корот-

кий временной отрезок происходит суммация активности нейронов, как результат взаимодействия различных возбудительных и тормозных нейронных сетей. Именно взаимодействие между возбудительными и тормозными нейронными се-

тия является механизмом выполнения различных функций коры мозга. Главное в исследовании механизмов синхронизации – определить, как осуществляется взаимодействие между нейронными сетями, что заставляет элементы коры действовать одинаково во времени и пространстве. В экспериментах для этих целей широко используется активность интериктальных спайков. В литературе используются две формы – интериктальный (между эпилептическими приступами) спайк и интериктальный разряд.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск соответствующих публикаций производился в электронных базах данных “PubMed”, “Springer”. Найденные на английском языке публикации представляли собой как экспериментальные исследования, так и литературные обзоры по данной тематике.

## ИНТЕРИКТАЛЬНЫЕ СПАЙКИ

### 1. СВОЙСТВА ИНТЕРИКТАЛЬНЫХ СПАЙКОВ

Гибс с соавторами (Gibbs et al.) еще в 1935 г. определили интериктальные спайки как электрофизиологический маркер эпилепсии, который появляется значительно чаще, чем приступы [78].

Интериктальные спайки наблюдаются у больших различными формами эпилепсии при клинических исследованиях, при экспериментальной эпилепсии у животных. Существует несколько условий и методик, при которых возникают интериктальные спайки. Они появляются при использовании блокаторов ГАМК А-рецепторов в коре – пенициллина [28, 94, 121] и бикикулина [26, 66, 92]. Они обнаруживаются у пациентов с резистентной фокальной эпилепсией [102], с резистентной височной эпилепсией [97], в кортикальных срезах, полученных при хирургических операциях пациентов с фокальной корковой дисплазией [22]. Блокада ГАМК А-рецепторов габазином, 4-аминопиридином (4-АР, блокатор  $K^+$  каналов) приводит к появлению подобных интериктальных разрядов с частотой около 1 Гц [68], как и при использовании пикротоксина [11].

Результаты генерации интериктальных разрядов, полученные с применением 4-АР, были также воспроизведены *in vitro* во время применения искусственной спинномозговой жидкости (ACSF), не содержащей  $Mg^{2+}$ . Существенно, что в указанных экспериментах эта процедура вызывала синхронизированные интериктальные спайки в изолированном срезе гиппокампа [8].

Специфическая фотостимуляция парвалбуминовых (PV) или соматостатиновых (SOM) интернейронов в присутствии проэпилептического

соединения 4-АР также последовательно запускает интериктальные спайки [122].

### 1.1. Фазы интериктальных спайков

В ряде работ было показано, что интериктальные разряды обычно состоят из двух фаз. Первая фаза характеризуется короткой длительностью (<100 мс), большой амплитудой и состоит из одиночного пика (реже многофазного), вторая фаза обычно является более медленной волной [78].

Необходимо отметить, что в некоторых исследованиях интериктальные разряды наблюдались 2-х типов. Так, в экспериментах на модели височной эпилепсии интериктальные разряды были со спайком и последующей длительной волной, и со спайком без волны. Таким образом, спайки 1-го типа будут соответствовать активации больших популяций возбуждающих и тормозных клеток, тогда как спайки 2-го типа будут возникать за счет активации возбуждающих клеток на более локальном уровне, поскольку как амплитуда, так и длительность пиков 2-го типа меньше, чем спайков 1-го типа. Существенно, что наличие только спайков 2-го типа позволяет предположить, что локальные нейронные сети могут быть активированы без включения тормозной обратной связи или, что локальные тормозные нейронные сети не активированы [16].

С нашей точки зрения, крайне важно для понимания механизмов синхронизации интериктальных спайков, что в разных экспериментах на разных объектах, включая грызунов и человека, было показано, что медленный компонент соответствует активности интернейронов.

Так, внутриклеточные записи нейронов показали, что наблюдается корреляция между фазами деполяризации и гиперполяризации и фазами интериктального спайка в ЭЭГ и полевого потенциала, и что короткие полевые интериктальные разряды были отражением деполяризации мембран [89]. У пациентов, так же, как и в экспериментальных моделях, высокоамплитудные, короткие разряды на ЭЭГ первой фазы соответствуют активности пирамидных нейронов, а второй, медленной волны – активности интернейронов [25, 7]. Интериктальные спайки содержат тормозный компонент, то есть являются гиперполяризованными, что указывает на то, что торможение составляет важную часть этих событий [108]. В одной из недавних работ также было продемонстрировано, что медленный компонент интериктальных разрядов определялся синаптическим торможением [97]. Интериктальные разряды, индуцируемые 4-АР, состоят из первичной деполяризации и последующей гиперполяризации [59].

Нейронный разряд, связанный с одиночным интериктальным спайком, сопровождается глу-

боким и продолжительным рефрактерным периодом, поддерживаемым тормозными потенциалами. Постспайковая депрессия может отвечать за периодичность интериктальных спайков, обычно наблюдаемую как на животных моделях, так и на модели эпилепсии человека [24].

Характерной особенностью интериктальной активности, вызываемой нанесением пенициллина на моторную кору анестезированных крыс, является интериктальный разряд, за которым следовала абсолютная рефрактерная фаза продолжительностью 200–300 мс, при которой эпилептические явления не могли быть вызваны эпикортикальной стимуляцией. Далее следовал период относительной рефрактерности длительностью 750 мс от стимула. Показательно, что пики, вызванные в интервале между 300 и 900 мс, были меньше, чем пики с большими интервалами, и требовали стимуляции более высокой интенсивности [28]. Что было связано с активностью торможения.

Уже в течение 1960-х годов внутриклеточные исследования, проведенные в острых экспериментах *in vivo*, показали, что интериктальные спайки, регистрируемые в кортикальных нейронах, расположенных в эпилептических очагах, вызванные применением конвульсантов (таких, как пенициллин), выражались пароксизмальными деполяризующими сдвигами мембранного потенциала, приводящими к устойчивым разрядам потенциала действия с последующей сильной гиперполяризацией. Они обычно состоят из большой амплитуды короткого компонента (продолжительностью 50–100 мс), за которой обычно следует медленная волна (длительностью 200–500 мс) [6, 25, 94].

В результате стимуляции коллатералей Шаффера при аппликации пенициллина на срез гиппокампа у нейронов CA1 возникает пароксизмальный деполяризационный сдвиг с последующим сильным увеличением длительности торможения по сравнению с ответом без пенициллина. В этих условиях пароксизмальное возбуждение интернейронов преобразуется в значительное прямое и обратное торможение возбуждающих нейронов [121].

В ранних работах было показано, что ранние (50 мс) и поздние (200 мс) фазы гиперполяризации отражают постсинаптическую активацию соответственно ГАМК А и ГАМК В-рецепторов [82].

### 1.2. Синхронизация интериктальных спайков

Важным свойством интериктальных спайков является синхронизация, независимо от того, в каких условиях происходила их генерация. Как показывает анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ), интериктальные разряды при фокальной эпилепсии поддерживаются синхронной деполя-

ризацией мембраны, генерируемой ансамблем гипервозбудимых нейронов. Генерация интериктального спайка, характерной особенностью которого является большая амплитуда, происходит в результате одновременной активности большого числа нейронов в локальной точке коры, то есть локальной синхронизации [99]. Высокосинхронный клеточный разряд, связанный с интериктальным спайком, генерируется множеством механизмов, включающих синаптическую и несинаптическую связь между нейронами [24].

Синхронизация интериктальных спайков является распространенным явлением как у пациентов, так и у экспериментальных животных. Было показано, что интериктальные спайки в значительной степени обусловлены кратковременными синхронными разрядами потенциалов действия, генерируемых пирамидными клетками. Кроме того, синхронные ГАМКергические потенциалы наблюдались во время генерации интериктальных спайков в срезах мозга, полученных из разных областей коры, и в изолированном препарате мозга морских свинок [25].

Синхронные интериктальные спайки продолжают возникать длительное время на протяжении всего эксперимента и остаются синхронными в энторинальной и гиппокампальной областях, распространяясь из гиппокампа (чаще всего СА3) на другие области [8].

Характерной особенностью интериктальной активности является почти одновременное появление разрядов (пространственная синхронизация) в разных областях коры. Подобное явление наблюдалось при аппликации 4-АР (блокатора  $K^+$  каналов) в переднюю поясную кору [89]. Какие механизмы лежат в основе такой активности, не вполне ясно. Наиболее вероятно, что синхронизацию интериктальных разрядов обеспечивает торможение, связанное с ГАМК В рецепторами, которое создает в локальных структурах и на расстоянии временное окно интеграции с участием обратных связей в коре.

## 2. ГАМКЕРГИЧЕСКИЕ ИНТЕРНЕЙРОНЫ

ГАМКергические тормозные интернейроны играют важную роль в осуществлении различных корковых функций. В последнее десятилетие наблюдался существенный прогресс в понимании разнообразия кортикальных ГАМКергических интернейронов с точки зрения молекулярного состава, морфологического разнообразия и многогранных функций. В качестве важного сдвига парадигмы, тормозные интернейроны теперь больше не рассматриваются как “рабы к возбуждающим клеткам”, просто сохраняя адекватный баланс возбуждения–торможения. Весьма вероятно, что сами ГАМКергические интернейроны

являются неотъемлемыми частями нейронных цепей для обработки сенсорных стимулов и делают результаты этой обработки доступными для моторных зон для целенаправленного поведения [32].

### 2.1. Классификация интернейронов

На основании молекулярной классификации терминологии Petilla [5], кортикальные интернейроны делятся на основе экспрессии специфических молекулярных маркеров. В частности, можно выделить несколько основных групп интернейронов: экспрессирующие парвальбумин (PV); экспрессирующие соматостатин (SOM), такие как клетки Мартиногги; экспрессирующие нейропептид Y (NPY), но не SOM; те, которые экспрессируют вазоактивный интерстициальный (кишечный) пептид (VIP); и те, которые экспрессируют холецистокинин (ССК), но не SOM или VIP [27].

Кроме этой существует классификация, в которой 100% ГАМКергических неокортикальных интернейронов разделены на 3 основных класса. На основании этой классификации 40% составляют интернейроны, экспрессирующие парвальбумин (PV), 30% экспрессируют соматостатин (SOM или аббревиатура SST, Sst), которые разделяются на несколько подклассов и большинство из которых составляют клетки Мартиногги (до 70%). Еще один класс, который составляет 30% от общего числа, который представлен клетками, экспрессирующими ионотропный серотониновый рецептор 5HT3a (5HT3aR). Он включает в себя группу интернейронов, которые экспрессируют вазоактивный интестинальный (кишечный) пептид (VIP), и нейроглиаформные клетки, которые являются уникальными среди других интернейронов, так как они устанавливают электрические синапсы не только друг с другом, но и с другими типами интернейронов, в отличие от всех других протестированных типов интернейронов, которые создают электрические контакты только с гомологичными нейронами. Кроме того, каждый класс включает в себя несколько мелких групп интернейронов [98].

В дальнейшем эта классификация была расширена добавлением связей интернейронов и их функций в коре. Почти все интернейроны в неокортексе экспрессируют один из трех основных перекрывающихся маркеров: парвальбумин (PV), соматостатин (SOM) и ионотропный рецептор серотонина 5HT3a (5HT3aR). Дальнейшие подразделения внутри каждой молекулярной группы выявляются по морфологическим признакам, клеточного и субклеточного нацеливания, экспрессии других маркеров, а также некоторым известным анатомическим, электрофизиологическим и синаптическим свойствам [109].

Исследование торможения у пирамидных нейронов 5 слоя на срезах соматосенсорной коры крысы показали, что при стимуляции интернейронов генерировались как быстрые, так и медленные ТПСП, но они возникали по отдельности, и смешанные ответы никогда не наблюдались. Таким образом, два механистически различных типа ТПСП, которые возникают в результате взаимодействия ГАМК с ГАМК А и ГАМК Б-рецепторами на нейронах неокортекса, могут быть опосредованы различными классами тормозных нейронов [9].

### 2.2. Функции интернейронов

Результаты исследований последнего времени показывают, что торможение в коре чрезвычайно сложно, так как в нем участвуют различные подклассы интернейронов, которые в свою очередь состоят из разнородных по морфологическим и функциональным свойствам единиц [32]. За прошедшие годы накопились данные, свидетельствующие о том, что ГАМКергические интернейроны играют важную роль во многих корковых функциях, включая регулирование усиления и модуляцию динамического диапазона кортикальных цепей, селективность сенсорных характеристик, пластичность, временную точность разрядов пирамидальных клеток, регулирование числа разрядов пирамидальных клеток, синхронизацию и генерацию корковых ритмов, а также в поддержании возбуждающего и тормозного баланса, необходимого для передачи информации при одновременном предотвращении чрезмерного возбуждения [109].

Считается, что ГАМКергические интернейроны играют важную роль в контроле времени разрядов пирамидных клеток, синхронизации, сетевой активности и генерации корковых ритмов. По-видимому, они реагируют на динамические изменения возбуждения, увеличивая динамический диапазон корковых нейронных сетей, контролируя сенсорные рецептивные поля, пластичность, поддерживая баланс возбуждения и торможения, необходимый для передачи информации, в то же время предотвращая выход из-под контроля возбуждения [98].

Такое разнообразие функций интернейронов существенно для работы мозга – выключение одного типа интернейронов или рецепторов не приводит к исчезновению торможения и в этих условиях продолжает действовать торможение другого типа [1]. Поэтому очень упрощенным является подход, в котором возникновение эпилепсии, заболевания, признаком которого является гиперсинхронизация, рассматривается как дефицит торможения [46], что не соответствует реальным процессам, происходящим в неокортексе.

### 2.3. Торможение через ГАМК Б-рецепторы

Для нас наибольший интерес представляют типы интернейронов, осуществляющих торможение посредством ГАМК Б-рецепторов. Не только потому, что в последнее десятилетие получены данные о том, что уменьшение торможения, связанное с ГАМК Б-рецепторами, приводит к нарушению функций мозга [69], но и, главным образом, потому, что исследование механизмов синхронизации интериктальных спайков проводилось нами в ситуации, когда ГАМК А-рецепторы были заблокированы. При блокировании ГАМК А-рецепторов в коре возникают интериктальные спайки, которые в дальнейшем синхронизируются. Такая экспериментальная модель является очень удобной для исследования механизмов синхронизации [1].

К таким интернейронам относятся: клетки Мартинотти [113, 112], которые составляют более 70% клеток, экспрессирующих протеин соматостатин (SOM+), и которые тормозят дистальные дендриты пирамидных клеток [104] посредством ГАМК Б-рецепторов [118]; нейроглиаформные клетки [84, 107, 17], которые были описаны во всех слоях, но более распространены в супрагранулярных слоях и являются основным компонентом первого слоя неокортекса [109].

Существенно, что иммуногистохимические исследования локализовали рецепторы ГАМК Б как для пре-, так и для постсинаптических элементов как в возбуждающих, так и в ингибирующих синапсах [60]. В периформной коре обнаружено, что активация ГАМК Б-рецепторов имеет двойные эффекты *in vivo* – с одной стороны, подавляет спонтанную активность в пирамидных клетках, а с другой стороны, способствует периодической синхронной эпилептиформной активности в тех же клетках [39].

#### 2.4. Соматостатиновые интернейроны (SOM+). Мартинотти клетки. Отличительные признаки

**2.4.1. Соматостатиновые интернейроны (SOM+).** Клетки SOM связаны друг с другом в отличие от других интернейронов. Около 40% клеток SOM с низким порогом генерации спайков (LTS) создают тормозные связи друг с другом [33]. Один из основных подтипов ГАМКергических интернейронов – SOM-позитивные клетки, которые имеют низкий порог генерации спайков (LTS) и регулярную генерацию спайков (RS), как это было показано в этом исследовании, образуют обратные связи с 2-мя подтипами пирамидных клеток в слое 5 [77]. Существенно, что SOM-клетки имеют различные типы генерации разрядов, а также широкий спектр морфологических видов [55, 56, 70].

Проведенный недавно морфологический анализ продемонстрировал существование трех подтипов соматостатиновых интернейронов в 5-м слое с отчетливыми электрофизиологическими свойствами: Т-образные клетки Мартинотти, имеющие низкий порог генерации спайков, которые тормозят близлежащие пирамидные клетки через апикальные дендриты слоя 1; веерообразные клетки Мартинотти также тормозят близлежащие пирамидные клетки, но через апикальные дендриты слоев 2/3 и нижнюю половину слоя 1 и демонстрируют адаптирующиеся схемы разрядов. Клетки, не принадлежащие к подтипу Мартинотти, тормозят нейроны слоя 4, но, при этом, не тормозят пирамиды слоя 5 и демонстрируют квази-быстрый образец разрядов [83]. В других работах соматостатиновые интернейроны описываются как клетки, имеющие регулярные спайки (RS) только в одной трети SOM-клеток, а остальные SOM-клетки проявляют FS-свойства, сходные с PV-клетками, что позволяет предположить наличие по крайней мере двух классов SOM-клеток в пириформной коре головного мозга мышей [61].

**2.4.2. Соматостатиновые интернейроны – ГАМК Б.** В соматосенсорной коре мышей активность подавлялась посредством активации пресинаптических ГАМК Б-рецепторов, управляемых активностью соматостатин-экспрессирующих интернейронов, которые обеспечивали медленное торможение в коре длительностью более 100 мс после быстрой фазы торможения. При оптогенетическом подавлении активности соматостатиновых интернейронов происходило повышение амплитуды ВПСП и увеличение нейронной активности, эти эффекты были полностью обратимыми и устранялись антагонистами ГАМК Б-рецепторов [112].

**2.4.3. Мартинотти клетки. Отличительные признаки.** SOM интернейроны не являются однородным классом, но те, что присутствуют в слоях 2/3 и 5 и аксон которых заканчивается в слое 1 коры соответствуют по морфологическим критериям клеткам Мартинотти [119, 70]. Карло Мартинотти первый сделал сообщение о клетках в слое 5 коры в 1889 г. Позднее они получили название по его фамилии [119].

Клетки SOM включают группу нейронов, которые были идентифицированы, с использованием различных анатомических и электрофизиологических критериев, как клетки “Мартинотти”, bitufted-клетки (“с двумя пучками”), клетки с регулярным разрядами (RS) или не пирамидные клетки, или клетки с низким порогом генерации спайков (LTS) [30, 56, 119]. Интернейроны неокортекса соматостатин-позитивные клетки состоят из нескольких подтипов, из которых нейроны Мартинотти являются преобладающим типом



[98]. Как в зрительной, так и в соматосенсорной коре LTS-интернейроны представляли собой соматостатин-позитивные клетки Martinotti, сконцентрированные в слое 5, с плотной аксональной иннервацией в слое 1 [41]. Необходимо отметить, что клетки Martinotti формируют ~70% SOM-экспрессирующих клеток в коре головного мозга [48].

Характерной особенностью клеток Мартинотти является то, что они имеют дендриты, умеренно покрытые шипиками, и аксоны, которые восходят к слою 1 и иннервируют дендриты пирамидных нейронов [57, 119].

**2.4.4. Морфология Мартинотти клеток.** Характерной чертой морфологической характеристики Мартинотти интернейронов является длинный восходящий аксон, который проецируется и горизонтально ветвится в 1 слое коры [53, 104, 50, 98] на расстояние до 1 миллиметра [119].

Клетки Мартинотти в основном присутствуют в слоях 2/3 и 5/6. Для них характерна локальная аксонная “беседка” и длинный восходящий аксон, который распространяется и значительно расширяется в слое 1, а также биполярные или многополярные дендриты [109].

Дендритное дерево значительно меньше аксонального, сома клеток яйцевидная или веретенообразная [53, 54, 119]. Хотя все они имеют некоторые общие анатомические, электрофизиологические и биохимические свойства. Но наблюдаются четкие различия морфологических признаков клеток Мартинотти специфичные для слоев 2/3–6 коры [119].

**2.4.5. Расположение в коре и проекции. Связи.** Электронно-микроскопическое исследование Мартинотти-клеток показало, что все синапсы были симметричными и большинство синапсов (71%) были сформированы на дендритах. Было обнаружено, что они контактируют с апикальными и базальными дендритами во многих неокортикальных слоях: Мартинотти-клетки из слоя 2/3 нацелены в основном на слой 1 и в меньшей степени на слой 2/3; из слоя 4 нацелены в основном на слой 4 и в меньшей степени на слой 1; из слоя 5 и 6 были нацелены в основном на слой 4 и слой 1 и в меньшей степени на слой, в котором располагались их сомы [119].

Пирамидные нейроны в локальной нейронной сети (в пределах 100 мк) 5-го слоя коры образуют с соседними пирамидными нейронами моносинаптические возбуждающие связи и дисинаптические тормозные. Кроме этого, что крайне существенно, клетки Мартинотти образуют возвратное торможение с пирамидными нейронами 5 слоя через апикальные дендриты 1-го слоя (того же пирамидного нейрона, который инициирует эту активность). Эта схема предлагается в каче-

стве центрального механизма регулирования корковой активности [104].

Клетки Мартинотти иннервируют дистальные дендриты пирамидных нейронов в слое 1. В отличие от большинства других типов нейронов слоев 2/3, SOM нейроны получают сильно облегчающий возбуждающий синаптический вход от лежащих пирамидных нейронов. Активность SOM интернейронов в зоне бочонков в слоях 2/3 сенсомоторной коры бодрствующих мышей имеют отрицательную корреляцию со всеми другими соседними типами клеток. Это означает, что торможение дистальных дендритов, обеспечиваемое нейронами SOM снижается в то время, когда увеличиваются возбуждение и торможение других клеток [90].

Несмотря на то, что химических синапсов между нейронами SOM чрезвычайно мало, более половины проксимальных пар SOM-нейронов в неокортексе электрически связаны щелевыми контактами. Так, в зоне бочонков соматосенсорной коры мышей наблюдали синхронизацию спайковой активности экспрессирующих соматостатин пары интернейронов за счет взаимосвязи между ними посредством электрических синапсов [45].

Клетки, которые по морфологии, по-видимому, во многих случаях являются клетками Мартинотти, часто связаны с другими клетками Мартинотти в слое 2/3 соматосенсорной коры мышей. Эти супрагранулярные интернейроны образуют электрически связанную сеть, которая оказывает когерентное тормозное влияние в частотах 3–10 Гц на свои нейроны-мишени [30].

Используя методы оптогенетики, исследовали большой дальности входы от M1 до различных нейронных элементов в S1. Было обнаружено, что SOM-интернейроны получили самый слабый вклад от M1. В SOM-интернейроне фотостимуляция вызвала очень маленькие ВПСП, сопровождаемые выраженным тормозным постсинаптическим током [63].

Неокортикальные нейроны SOM, по-видимому, получают возбуждающий синаптический вход преимущественно из локальных и отдаленных кортикальных областей, а не из подкорковых областей [49, 48, 91].

**2.4.6. Участие клеток Мартинотти в торможении.**

**2.4.6.1. Торможение пирамидных нейронов.** В ряде работ были определены характеристики торможения между самими клетками Мартинотти (МК) и торможения пирамидных нейронов. Чрезвычайно важным свойством МК является торможение интернейронов других классов и, что не менее важно, торможение самих клеток Мартинотти по принципу обратных связей в нейронных сетях старой и новой коры. В связи с этим

крайне интересным свойством МК является то, что в отличие от многих других корковых связей, синапс между пирамидной клеткой и клеткой Мартинотти является облегчающим. Высокочастотная стимуляция пирамидной клетки может вызывать спайковую активность клетки Мартинотти, что обеспечивает уровень торможения, зависящий от предыдущего уровня возбуждения в сети. Короткий высокочастотный разряд в нескольких пирамидных нейронах может служить затвором для дальнейшего возбуждения апикальных дендритов всей колонки. Это торможение способствует подпороговым корреляциям и синхронизации спайков в пирамидных клетках [10]. От себя заметим, что таким образом клетки Мартинотти создают временное окно интеграции в корковых нейронных сетях.

Клетки Мартинотти легко индуцируют дисинаптическое торможение между пучками дендритов пирамидных нейронов 5-го слоя [44, 104], что говорит о том, что они сильно иннервируются подтипами пирамидных клеток 5 слоя.

Кроме того, что клетки Мартинотти так же, как и нейроглиаформные интернейроны, действуют на дендриты пирамидных нейронов, они включаются при разных условиях и действуют по разным механизмам и, что особенно важно, осуществляют тормозный контроль в корковых сетях *in vivo* [87].

Одним из важных свойств соматостатиновых интернейронов является торможение посредством ГАМК B рецепторов в пресинаптических синапсах. SOM-интернейроны (которые по своим характеристикам соответствовали клеткам Мартинотти) активирует пресинаптические рецепторы ГАМК B в синапсах пирамидных клеток во 2-ом слое неокортекса, глубоко подавляя передачу и во многих случаях эффективно подавляя синапсы. Оптогенетическое подавление активности SOM-нейронов было достаточным для снижения частоты синаптических сбоев и увеличения средней амплитуды ВПСР. Этот эффект был полностью обратимым и перекрывался антагонистами ГАМК B. Эти данные указывают на то, что SOM-интернейроны могут быстро и обратимо тормозить возбуждающие синапсы посредством регуляции пресинаптического высвобождения. Поскольку было показано, что активность SOM-интернейрона регулируется сенсорным и моторным входом, эти результаты предполагают механизм, с помощью которого функциональная связь и синаптическая пластичность могут регулироваться в зависимости от состояния. Текущая активность SOM-клеток также может модулировать возбуждающую передачу через ГАМКергическую активацию пресинаптических ГАМК B-рецепторов [113].

**2.4.6.2. Возвратные связи между пирамидными нейронами и клетками Мартинотти.** Для понимания функций клеток Мартинотти в коре существенно, что их реализация происходит по обратным связям в неокортексе. Так, одновременная стимуляция пирамидных клеток и клеток Мартинотти 5-го слоя показала, что синхронизация пирамидных нейронов в этом слое осуществляется по обратным связям между клетками Мартинотти и пирамидами [44]. Торможение через дендриты SOM интернейронов в возвратных нейронных сетях с возбуждающими нейронами является достаточным для генерации ритмов гамма-диапазона и создания когерентности между возбуждающими нейронами [116].

**2.4.6.3. Торможение интернейронов.** В коре интернейроны осуществляют торможение не только возбудительных нейронов, но в значительной степени друг друга, создавая таким образом облегчение. В локальных нейронных сетях неокортекса мышей между группами интернейронов VIP и PV были обнаружены взаимные тормозные связи. Также взаимосвязи были установлены между VIP и SOM интернейронами. Существенно, что VIP и SOM привлекают к участию своих членов популяции через четыре механизма: электрическая связь, полное отсутствие (SOM) или относительный дефицит (VIP) торможения в популяции, сильное VIP через высвобождение ACh. Пара интернейронов в популяции PV и SOM взаимно тормозят друг друга и получают локальное возбуждение с различной динамикой – если они получают возбуждение одновременно, то прямое взаимное торможение между ними не возникает. На основании полученных данных была предложена новая модель нейронных связей интернейронов в неокортексе, включающая взаимные тормозные популяции, а не последовательную иерархию популяций [52].

В обонятельной коре соматостатин-экспрессирующие интернейроны обычно описываются как регулярные спайки (RS) или низкопороговые спайки (LTS), то есть являются клетками Мартинотти. В неокортексе, было обнаружено, что SOM-клетки широко тормозят ряд не идентифицированных классов интернейронов, включая предположительно идентифицированные PV-клетки и, что удивительно, другие SOM-клетки. Кроме того SOM-клетки тормозят дендриты пирамидных нейронов и, таким образом, влияют на дендритную интеграцию афферентных и возвратных входов в интеринальную (пириформную) кору. В целом, эти результаты показывают, что интернейроны SOM играют важную роль в регуляции как возбуждения, так и торможения во время процесса обоняния. В отличие от предыдущих данных о том, что клетки SOM не ингибируют друг друга в неокортексе [91], было обнаруже-

но, что клетки SOM ингибируют другие клетки SOM в периформной коре [61].

Наблюдаются существенные отличия клеток Мартиноути от интернейронов других классов. Тогда как у бодрствующих мышей медленные флуктуации мембранного потенциала большой амплитуды очень синхронны в PV, 5HT3aR и возбуждающих нейронах, то эти флуктуации сильно снижены и негативно связаны с нейронами SOM. Таким образом, нейроны SOM имеют другую динамику спонтанного мембранного потенциала по сравнению со всеми другими классами соседних нейронов. Нейроны SOM также уникальны тем, что они гиперполяризованы и тормозятся входным сигналом от вибрисс, тогда как PV, 5HT3aR и возбуждающие нейроны деполяризуются и возбуждаются сенсорной стимуляцией. Активность SOM интернейронов в зоне бочонков в слоях 2/3 сенсомоторной коры бодрствующих мышей имеют отрицательную корреляцию со всеми другими соседними типами клеток. Это означает, что торможение дистальных дендритов, обеспечиваемое SOM-клетками, снижается в то время, когда увеличиваются возбуждение и торможение других клеток [38].

**2.4.6.4. Отсутствие связей между SOM интернейронами.** В результате исследований была определена архитектура нейронных сетей, в которых клетки VIP тормозят клетки SOM, и наоборот. SOM-клетки тормозят все тормозные нейроны, кроме самих SOM-клеток, избегают друг друга [91].

Поскольку SOM-интернейроны не тормозят друг друга, но ингибируют нейроны PV, то в условиях, когда размер зрительного стимула увеличивается, величина ответа и количество SOM интернейронов, рекрутированных в поверхностных слоях зрительной коры мыши, продолжают увеличиваться. В это же время ответ пирамидных клеток и PV-интернейронов уменьшился из-за торможения, обеспечиваемого SOM-интернейронами [109]. Крайне важно, что в этих работах не выявлены связи друг с другом клеток Мартиноути, то есть они не тормозят активность одноименных клеток, в отличие от работ других авторов, в которых такая связь была выявлена.

**2.4.6.5. Торможение нейронов в других областях коры.** Используя методы оптогенетики, исследовали входы большой дальности от моторной коры (M1) до различных нейронных элементов в соматосенсорной коре (S1). Обнаружили, что пирамидные нейроны M1 активировали в S1 VIP-интернейроны (один из подтипов 5HT3aR-интернейронов в поверхностных слоях S1), которые в свою очередь тормозили клетки SOM, которые были нацелены на дистальные дендриты пирамидных клеток S1. Кроме того между этими классами интернейронов наблюдался определенный антагонизм. In vivo, во время движения вибрисс,

VIP-нейроны были сильно и специфически активированы, тогда как активность SOM-интернейронов в этот момент была подавлена [63].

Были получены данные, которые также свидетельствовали о том, что взаимное торможение между PV и SOM интернейронами поддерживает совместную активность в обеих популяциях [51].

### 2.5. Нейроглиоформные интернейроны

Еще один класс интернейронов обычно обозначают как 5HT3aR (серотонин, 5-гидрокситриптамиин 3a), которые включают по крайней мере два разных подкласса ГАМКергических нейронов, один из которых является нейроглиоформными клетками [90]. 5HT3aR интернейроны составляют треть всех ГАМКергических интернейронов [62, 98]. Кроме того, что нейроглиоформные клетки экспрессируют 5HT3aR, они очень часто экспрессируют рилин и NPY (нейропептид Y) [62, 32].

**2.5.1. Морфология.** В разных работах строение нейроглиоформных клеток описывается по-разному. Так, в одних работах нейроглиоформные клетки имеют разветвление аксонов, похожее на паутину [21, 32], или с вытянутым древовидным ветвлением аксонов [48], или в виде плотного аксонального облака, образованного одной нейроглиоформной клеткой [84]. Нейроглиоформные клетки имеют горизонтально растягивающиеся аксональные коллатерали в слое 1 [47, 48], и их аксональные коллатерали простираются на несколько сотен микрон.

**2.5.2. ГАМК Б-рецепторы.** Нейроглиоформные клетки представляют большой интерес тем, что в отличие от других ГАМК-клеток, они вызывали комбинированные ГАМК А и ГАМК Б-опосредованные рецепторами ответы и были преимущественно нацелены на дендритные шипики пирамидных нейронов [107].

Нейроглиоформные клетки опосредуют большую часть их тормозного действия на дендриты через рецепторы ГАМК Б. Влияние ГАМК Б-торможения осуществляемого нейроглиоформными клетками на пирамидальные нейроны является значительным [88].

Крайне важно, что нейроглиоформные клетки могут иметь в качестве мишени как постсинаптические ГАМК Б-рецепторы, так и пресинаптические ГАМК Б-рецепторы, расположенные на глутаматергических окончаниях [20].

Электрофизиологические данные свидетельствуют о том, что рецепторы ГАМК Б, экспрессируемые нейроглиоформными интернейронами, способствуют динамическому контролю возбуждающего входа в пирамидные нейроны CA1. Поэтому связь нейроглиоформных клеток с пирамидными нейронами CA1 обеспечивает уникальный и

тонкий механизм формирования временной области интеграции для сигналов, поступающих через главный возбуждающий вход в пирамидные клетки CA1 [92, 93], кроме того, экспериментальные данные показали, что ГАМК B-рецепторы присутствуют как на пресинаптических, так и постсинаптических мембранах в синапсах между нейроглиаформными интернейронами [92].

У крыс единичные потенциалы действия в нейроглиаформных клетках вызывали компонент, опосредованный рецептором ГАМК B, у нейронов с регулярными спайками и быстро разряжающихся интернейронах (PV) после компонента, опосредованного рецептором ГАМК A, в постсинаптических реакциях [85].

Существенно, что нейроглиаформные клетки осуществляют постсинаптические связи посредством ГАМК B-рецепторов. Они вызывают медленные, длительные ТПСР в пирамидных нейронах и других интернейронах за счет комбинированной активации рецепторов ГАМК A и ГАМК B и являются единственными интернейронами, которые, как было показано, вызывали унитарные ответы ГАМК B в ответ на единый потенциал действия. Кроме того они имели высокую вероятность соединения со всеми соседними нейронами [84].

Было отмечено, что в дополнение к ГАМК A-опосредованному синаптическому медленному торможению, нейроглиаформные клетки также осуществляют медленное торможение посредством активации постсинаптических метаболитных ГАМК B-рецепторов [32].

Было установлено, что неокортикальные нейроглиаформные клетки модулируют свои собственные аксонные терминалы через ГАМК B-рецепторы, так же, как нейроглиаформные клетки гиппокампа [87].

### 2.5.3. Расположение в коре и проекции. Связи.

**2.5.3.1. Расположение в коре.** Около 30–40% интернейронов 1-го слоя являются нейроглиаформными клетками. Нейроглиаформные интернейроны 1-го слоя, так же, как и клетки Мартинотти, имеют проекции на апикальные дендриты корковых пирамидных нейронов 5 слоя. Исследование *in vivo* показало, что вероятнее всего их можно активировать стимуляцией через каллозальные волокна, которая, по-видимому, вовлекает именно эту специфическую субпопуляцию, но не другие интернейроны 1 слоя [88].

Нейроглиаформные клетки были описаны во всех слоях, но более всего распространены в надгранулярных слоях, и являются основным компонентом 1-го слоя [32, 48, 109]. Следует отметить, что они редко наблюдаются в 5-ом слое коры [84, 48].

**2.5.3.2. Дендриты мишени нейроглиаформных клеток.** Данные электронной микроскопии показали синаптические контакты с нейроглиаформ-

ными клетками на дендритах и шипах и очень мало на соме [109].

Нейроглиаформные клетки нацелены на базальные и проксимальные апикальные косые дендриты и вызывают там медленные ТПСР. Они располагают тормозные синапсы на апикальных дендритах пирамидальных клеток, расположенных как в основной колонке, так и в соседних, тем самым тормозят большую популяцию этих нейронов [32].

**2.5.3.3. Связи в коре.** Нейроглиаформные клетки были электрически связаны с другими нейроглиаформными клетками, клетками корзины, клетками, имеющими регулярные спайки, с аксонными клетками и с различными неклассифицированными интернейронами, демонстрирующими различные паттерны спайковой активности и морфологию [105].

Нейроглиаформные клетки могут тормозить все близрасположенные возбуждающие и тормозные нейроны путем синаптического и несинаптического торможения, так как образуют с ними не только химические, но и электрические синапсы, и это позволяет предположить, что таким образом регулируют активность нейронных сетей в глобальном масштабе [92, 32].

### 2.5.4. Торможение и растормаживание.

**2.5.4.1. Синаптическое торможение.** Нейроглиаформные интернейроны слоев 2/3 обычно тормозят дистальные дендриты пирамидных нейронов коры слоев 2/3 и 5. Нейроглиаформные клетки тормозят пирамидные нейроны как внутри той же колонки, так и между колонками на расстоянии до 300 мк [64].

В экспериментальных исследованиях были получены доказательства того, что длительно действующие ТПСР сочетаются с электрической связью между нейроглиаформными клетками и несколькими типами интернейронов человека и крысы. Синаптические потенциалы распространяются через электрически связанные сети интернейронов. Объединенные в обширную сеть электрических синапсов, связывающих несколько классов интернейронов, нейроглиаформные клетки способны контролировать под- и надпороговую активность связанных нейронов и могут преобразовывать эту активность в длительную химическую передачу сигналов через метаболитные рецепторы ГАМК B в нескольких популяциях нейронов [85, 84].

Нейроглиаформные клетки могут тормозить все близрасположенные возбуждающие и тормозные нейроны путем синаптического и несинаптического торможения, так как образуют с ними не только химические, но и электрические синапсы, и это позволяет предположить, что таким образом регулируют активность нейронных сетей в глобальном масштабе [32].

Одиночные потенциалы действия в пресинаптической нейроглиаформной клетке вызывали медленный ТПСР в пирамидной клетке, за которым следовал длительный ТПСР в другой нейроглиаформной клетке [107, 105].

С большой долей уверенности утверждалось, что нейроглиаформные клетки являются основным средством управления мощного торможения нейронных сетей, которое, действуя через ГАМК Б-рецепторы, могут дифференцированно вовлекаться дальними связями, чтобы выполнять роли столь же разнообразные, как сознательное восприятие и консолидация памяти [20].

**2.5.3.4. Объемное торможение.** Характерной особенностью нейроглиаформных интернейронов, которая принципиально отличает их от всех интернейронов коры, является наличие объемной передачи. В этом случае тормозный медиатор ГАМК выбрасывается аксонами в межклеточное пространство. Наличие объемной передачи делает их главными кандидатами на осуществление синхронизации в нейронных сетях коры. Показано, что отдельные нейроглиаформные клетки выделяют ГАМК в объеме, достаточном для передачи в аксональном облаке, и, таким образом, нейроглиаформные клетки не требуют синапсов для получения тормозных реакций в подавляющем большинстве нейронов, находящихся поблизости [17, 84, 87, 107].

Объемная передача предполагает очень высокую скорость функциональной связи между нейроглиаформными клетками и соседними нейронами [84, 87]. Кроме того, небольшое количество нейроглиаформных клеток обладает возможностью вызывать далеко распространяющееся торможение путем активации рецепторов ГАМК Б посредством, по-видимому, неизбирательной объемной передачи [20, 109], хотя получены экспериментальные данные [17], показывающие, что мишени нейроглиаформных клеток могут быть более специфичными для синапсов, чем предполагалось. Из всех интернейронов только нейроглиаформные клетки, по-видимому, демонстрируют этот уникальный способ связи с другими нейронами [17, 32, 107].

**2.5.3.5. Растворивание (торможение интернейронов).** Нейроглиаформные интернейроны устанавливают тормозные синапсы на пучках апикальных дендритов пирамидальных клеток, расположенных как в основной колонке, так и в соседних, тем самым тормозя большую популяцию этих нейронов. Кроме того, нейроглиаформные клетки слоя 1 нацелены на 3 типа интернейронов слоев 2/3 (клетки Мартинотти, нейроглиаформные клетки и биполярные клетки с двойным пучком дендритов (bitufted cell)), тем самым растворяя пирамидные клетки [16, 32, 47].

## 2.6. VIP интернейроны

В коре мозга существует подкласс интернейронов, экспрессирующих вазоактивный кишечный пептид (VIP). VIP-клетки принадлежат к классу интернейронов, которые экспрессируют серотониновый рецептор 5HT<sub>3a</sub> (40%) [62, 98].

**2.6.1. Морфология.** Аксоны VIP-интернейронов имели тенденцию спускаться от мягкой мозговой оболочки и были несколько уже, чем аксоны SOM или PV клеток. Так, вертикальная длина и горизонтальная длина у VIP клеток составляла в среднем 440 и 233 мкм соответственно, а у SOM: 756 и 615 мкм и у PV 628 и 649 мкм [51].

Клетки VIP в основном представляют собой биполярные/двухохолковые клетки, обладающие характерными вертикально ориентированными дендритами и аксонами, которые проходят через многие кортикальные слои. VIP-интернейроны в слоях 2/3 являются крупнейшей субпопуляцией 5HT<sub>3aR</sub>, имеют плотный домен аксонов в слое 2/3 и дендриты в обоих слоях 2/3 и 1 [95].

**2.6.2. Расположение в коре и проекции. Связи.** В то время как VIP-нейроны сравнительно редки в слое 5, почти 60% VIP-нейронов находятся в слоях 2/3. Их аксоны спускаются в более глубокие слои и соединяются с пирамидными клетками и интернейронами в 5-ом слое [47].

**2.6.3. Действие через ГАМК Б-рецепторы.** Только небольшая часть VIP-иммунопозитивных интернейронов связана с классическим источником медленного ингибирования ГАМК Б-рецепторами. 25% субпопуляции ГАМК Б интернейронов в базолатеральной амигдале составляли VIP-нейроны [75].

**2.6.4. Торможение и растворивание VIP-интернейронами.** В неокортикальном слое 2/3 активация VIP-интернейронов может блокировать латеральное дисинаптическое торможение между пирамидными нейронами в срезах. Одиночные VIP-интернейроны могут оказывать локальное тормозное воздействие на окружающую нейронную сеть. Существенно, что VIP-интернейроны имеют растворяющую зону диаметром ~240 мкм в общей зоне торможения, опосредованной SOM-клеткам. Поскольку VIP-интернейроны в основном нацелены на SOM-интернейроны, которые опосредуют торможение близлежащих пирамидных нейронов, то возможно, что роль VIP-интернейронов заключается в том, чтобы сделать пространственно ограниченные зоны, в которых блокируется торможение. При использовании оптогенетических методов для активации VIP-интернейронов, обнаруживается, что VIP-интернейроны тормозят серотостатиновые и некоторые парвальбуминовые интернейроны, что, в свою очередь, ослабляет торможение этими нейронами пирамидных клеток. Следует отметить, что VIP-интернейроны в слое 2/3 эф-

фективно нацелены на соматостатиновые интернейроны, тогда как торможение парвальбуминовых интернейронов и пирамидных клеток относительно слабое, как и было предсказано анатомическими данными [51].

В слоях 2/3 было показано, что VIP-клетки нацелены на другие интернейроны как часть выделенных растормаживающих цепей. VIP-клетки появились как специалисты по растормаживанию, которые могут освободить сети пирамидных нейронов от торможения путем избирательного подавления других интернейронов, особенно клеток SOM. Показано, что в 5-ом слое клетки PV и SOM иннервируются VIP-тормозящими синапсами [80].

Функция растормаживания, осуществляемая VIP-интернейронами, носит глобальный характер. В нескольких областях коры, включая зону баррелов, зрительную, слуховую и префронтальную кору, было показано, что они опосредуют растормаживание пирамидных клеток посредством торможения SOM+ и/или PV+ интернейронов [32].

Последние данные свидетельствуют о том, что синапсы VIP-клеток находятся в первую очередь на SOM-клетках, избегая при этом пирамидные клетки. Таким образом, во время спонтанной сетевой активности, такой как Up-состояние, VIP-клетки могут растормаживать пирамидные клетки, тормозя SOM-клетки [81].

### *2.7. Парвальбумин-экспрессирующие (PV)-интернейроны*

В коре существует большой класс интернейронов, экспрессирующих парвальбумин. Они ассоциируются с быстро-разряжающимися интернейронами (FS) [5, 56].

**2.7.1. Морфология PV-интернейронов.** Существует два типа парвальбуминовых нейронов: корзинчатые клетки, синапсы которых располагаются на соме и проксимальном дендрите нейронов мишени и обычно имеют многополярную морфологию, и клетки-канделябры, которые нацелены на начальные сегменты аксонов пирамидальных клеток [5, 56].

**2.7.2. Торможение через активацию ГАМК Б-рецепторов.** В зрительной коре разряды FS-нейронов высвобождают ГАМК, которая может активировать как ГАМК А, так и ГАМК Б-рецепторы. В этом исследовании было показано, что обе субъединицы ГАМК Б-рецепторов – (R)1a/b и R2 экспрессируются в клеточных телах и дендритах в 92–100% парвальбумин-содержащих интернейронов [42].

В срезах гиппокампа CA1 в пресинаптическом торможении 40% аксонных окончаний PV-интернейронов содержат ГАМК Б-рецепторы. PV со-

держат пресинаптические ГАМК Б-рецепторы на своих аксонных терминалах, действуя как авторецепторы [13].

В недавней работе было показано, что передача сигналов в постсинаптических ГАМК Б-рецепторах возбуждающих нейронах необходима для долгосрочной депрессии торможения в выходном синапсе PV-интернейрона [115].

**2.7.3. Нейроны мишени PV-содержащих интернейронов.** Опосредованное FS-интернейронами торможение через активацию ГАМК Б рецепторов позволяет регулировать активность пирамидных нейронов с высокой степенью специфичности [117].

В работе были получены данные, что тормозные постсинаптические потенциалы в синаптических контактах между FS-интернейронами в 4-ом слое и возбуждающими нейронами того же слоя были опосредованы исключительно рецепторами ГАМК А. ТПСР полностью блокировался 25 мкМ габазином, антагонистом рецепторов ГАМК А. При этом никакого вклада ГАМК Б-рецепторов в тормозный ответ не наблюдалось [58].

## 3. РЕЦИПРОКНЫЕ СВЯЗИ НЕЙРОНОВ КОРЫ

### *3.1. Анатомические реципрокные связи*

Между различными областями неокортекса выявлены анатомические реципрокные связи. При использовании анатомических трассеров были найдены проекции как из первичной моторной коры (M1) к соматосенсорной коре (S1), а также из S1 к M1, что свидетельствует о том, что эти области коры взаимно связаны. Кроме того, S1 и S2 области взаимно связаны, как показала ретроградная маркировка у мышей [4].

Необходимо отметить, что реципрокные проекции из первичной моторной коры в первичную сенсомоторную кору мышей иннервируют главным образом из слоев 5/6 и 1. Эти связи выполняют функции моторного контроля, обеспечивая быстрый негативный возвратный сигнал для сенсомоторной интеграции [74].

При использовании различных методов определения морфологических связей были найдены проекции из представительства зоны вибрисс S1 в представительство вибрисс M1 коры мышей и обратно. Так кортико-кортикальные нейроны в слоях 2/3 и 5а первичной моторной коры образуют мощную дисинаптическую обратную петлю со слоями 2/3 и 5а первичной сенсомоторной коры, связывая, таким образом, сенсорную и моторную кору [73].

Реципрокные связи существуют между другими областями мозга. Выявлены прямые и обратные связи между S1 и S2 (вторичная соматосенсорная кора), S2 и M1, S1 и M1. Обычно наблюдается ре-

ципронная кортико-кортикальная связь, что предполагает двунаправленный поток информации, связывающей эти кортикальные области [31].

Необходимо отметить, что наличие морфологических связей в коре является необходимым, но не достаточным условием функциональных связей. Если рельсы проложены, то вовсе не обязательно, что по ним могут ходить поезда.

### 3.2. Функциональные реципрокные связи

**3.2.1. Реципрокные пространственные связи между областями коры.** На самом деле поразительно, что несколько областей головного мозга связаны двунаправленно через ГАМКергические клетки проекциями большой дальности, которые заканчиваются преимущественно на тормозных клетках в целевой области. На основании этих результатов предполагается, что ГАМКергические клетки с проекциями (отростками) большой дальности осуществляют синхронную активность между отдаленными областями мозга через обратные связи [15, 76].

Небольшое подмножество (6–9%) клеток SOM, которые экспрессируют NPY, образуют особый морфологический класс, с проекциями аксонов на большие расстояния. Хотя их немного, они могут проецироваться на несколько областей мозга, как по горизонтали, так и по вертикали, что делает их хорошими кандидатами для синхронизации нейронной активности между несколькими корковыми и подкорковыми областями [123].

Были получены экспериментальные данные наличия прямых дальних тормозных связей между пирамидными нейронами из одной области лимбической коры и интернейронами (NPY+) другой. Но они также включают нейронную цепь между областями, которая взаимно (реципрокно) регулирует активность друг друга [100].

Исследования на срезах коры мышей связей между S1 и M1 областями показали, что эти области связаны прямыми проекциями в обоих направлениях. Ответы с большей величиной наблюдались в направлении прямой связи (S1–M1), тогда как ответы с обратной связью (M1–S1) возникали при более коротких задержках. Несмотря на расстояние около 3 мм между двумя областями, в них наблюдались коротколатентные, преимущественно моносинаптические, ответы после электрической стимуляции как S1, так и M1. Предполагается, что функции обратной связи от M1 до S1 могут служить для синхронизации активности клеток, реагирующих на стимуляцию вибрисс [96].

При исследовании функциональных связей между областями коры, находящимися на значительном удалении друг от друга, у трансгенных

мышей электростимуляция в области S1 вызывала местные реакции кальция в местах, которые предположительно соответствуют ипсилатеральной области M1. Соответственно, картирование с помощью внутрикоровой микроstimуляции области M1 мозга вызывало устойчивые локальные кальциевые реакции в ипсилатеральной области S1, а также в контралатеральных областях M1. Таким образом, было выявлено точное пространственное расположение обратных функциональных связей между областями M1, S1 и S2 [114].

Также на трансгенных мышах *in vivo* были исследованы функциональные реципрокные связи между удаленными первичными сенсорными и ассоциативными областями коры с использованием стимуляции Channelrhodopsin-2 и потенциал зависимых красителей. Было показано, что зоны представительства передней и задней лапы в S1 имеют реципрокные связи и были в состоянии возбуждать M1. Фотостимуляция зоны представительства баррелов в S1 вызывала возбуждение в M1 в зонах представительства передней и задней лапы [67].

**3.2.2. Реципрокные связи пирамидных клеток и интернейронов (локальные).** В локальных нейронных сетях коры пирамидные нейроны и интернейроны образуют обратные связи друг с другом. В основном такие взаимосвязи были установлены между SOM-интернейронами и пирамидными клетками [52].

В экспериментах было показано, что одновременная стимуляция пирамидных клеток и клеток Мартинотти 5-го слоя вызывала синхронизацию пирамидных нейронов в этом слое и что она осуществляется по обратным связям между клетками Мартинотти и пирамидами [44].

Низкопороговые интернейроны образовывали отдельные возвратные тормозные цепи с каждым из 2 подтипов пирамидных нейронов [77].

Между экспрессирующими соматостатин-интернейронами 3-го слоя и пирамидными нейронами также наблюдались реципрокные связи, причем, если активация интернейронов вызывает ТПСР в пирамидных нейронах, то активация пирамидных клеток вызывает потенциацию у интернейронов [30].

Клетки Мартинотти участвуют в торможении пирамидных нейронов в слое 5 путем дисинаптической обратной связи [14, 79, 103].

Обратные связи существуют не только между пирамидными нейронами и интернейронами, но интернейроны создают взаимные (реципрокные) синаптические связи друг с другом [46].

## 4. МЕХАНИЗМЫ СИНХРОНИЗАЦИИ В КОРЕ

В коре существует несколько механизмов взаимодействия между нейронными сетями, кото-

**Таблица 1.** Механизмы синхронизации в коре

Способы синхронизации	Локальные	Пространственные
Через электрические синапсы	+	
Посредством электрических полей	+	+
Объемной передачи	+	
Через общий вход	+	+
Посредством обратной связи между нейронами	+	+
Созданием временного окна интеграции	+	+

рое находит свое отражение в синхронизации электрической активности (табл. 1). Причем это взаимодействие осуществляется как в локальном пуле коры, так и между удаленными областями. Крайне важно, что торможение напрямую связано с синхронизацией нейронов, установлением скорости колебаний и поддержанием их когерентности в пространстве [46].

#### *4.1. Электрические связи между интернейронами как механизм синхронизации*

##### **4.1.1. Посредством электрических синапсов.**

Важное свойство интернейронов оказывается решающим для генерации синхронизированных колебаний. Интернейроны электрически связаны, что позволяет синхронизировать их большие популяции интернейронов с точностью до миллисекунды [46].

Точная синхронность может возникать между двумя интернейронами, электрически соединенными через щелевые соединения, химически, через быстрые тормозные синапсы, или через оба типа соединений [45]. Синхронизация посредством электрических синапсов наблюдается у различных типов интернейронов. Нейронная сеть из FS-интернейронов (PV) за счет связи посредством электрических синапсов может обеспечивать синхронную активность нейронов неокортекса [36]. Следует отметить, что такой механизм синхронизации работает даже при блокаде ГАМК А-рецепторов [40].

Синхронизация электрической активности может обеспечиваться еще одним типом интернейронов коры – соматостатин-экспрессирующими. Так, электрические синапсы между тормозными интернейронами с низким порогом генерации спайков (LTS) способны обеспечивать надежную синхронизацию спайковой активности [71]. У интернейронов, представленных клетками Мартинолли, наблюдали сильную синхронизацию активности за счет электрических синапсов. Отличительной особенностью соматостатин-экспрессирующих интернейронов (в основном это клетки Мартинолли), сомы которых находятся в 3-ем слое неокортекса мышей, является то, что они имеют сильные электрические

связи между собой, но не с другими типами интернейронов [30]. В зоне баррелов соматосенсорной коры мышей наблюдали синхронизацию спайковой активности экспрессирующих-соматостатин пары интернейронов за счет взаимосвязи между ними посредством электрических синапсов [45].

Еще один тип интернейронов – нейроглиаформные клетки занимают уникальное положение среди кортикальных интернейронов, поскольку они устанавливают электрические синапсы не только друг с другом, но и с другими типами интернейронов в неокортексе и в области CA1 гиппокампа. Таким образом, нейроглиаформные клетки связывают множество сетей интернейронов и предположительно играют центральную роль в генерации и формировании синхронизированной активности нейронных сетей. В значительной степени этому способствует действие совместного ГАМК А и ГАМК Б-рецепторопосредованного торможения на пирамидальные клетки [105].

##### **4.1.2. Синхронизация посредством полевых потенциалов.**

Интериктальные спайки имеют большую амплитуду, составляющую несколько милливольт. Этот полевой потенциал распространяется на большие расстояния по коре и, что особенно существенно, практически мгновенно, в отличие от распространения активности по нейронам [3].

Активность популяции нейронных сетей и создаваемые ею эндогенные электрические поля формируют обратную связь: колебания активности вызывают изменения эндогенных электрических полей, которые действуют в свою очередь на потенциал мембраны нейронов, которые генерируют популяционную активность. Электрическая активность может, таким образом, представлять собой динамический механизм обратной связи, который модулирует и направляет активность нейронных цепей. В случае нейронных колебаний такой предлагаемый сигнал глобальной обратной связи может служить в качестве сигнала синхронизации в масштабах всей сети, который улучшает пространственно-временную структуру сетевой активности [35].



#### *4.2. Синаптические связи интернейронов как механизм синхронизации*

Существенно, что синхронизация электрической активности в коре определяется в первую очередь собственными корковыми механизмами [43]. Исследования механизмов гамма-осцилляций позволили предположить, что существуют два основных механизма, с помощью которых могут генерироваться колебания в локальной сети гиппокампа: вовлечение межнейронной сети, синхронизированной взаимными ГАМКергическими соединениями и/или щелевыми соединениями [72]. Главную роль здесь играют синаптические связи между различными типами нейронов в коре.

Торможение напрямую связано с синхронизацией участвующих нейронов, установлением скорости колебаний и поддержанием их когерентности в пространстве. Важным свойством интернейронов, оказывающимся решающим для генерации синхронизированных колебаний является то, что интернейроны создают взаимные реципрокные синаптические связи друг с другом [46].

Существенно, что синхронизация эпилептической активности в корковых нейронных сетях генерируется за счет взаимных синаптических связей между тремя нейронными сетями интернейронов, экспрессирующих парвальбумин (PV), соматостатин (SOM) и вазоактивный интестинальный пептид (VIP). Хотя вклад каждой группы интернейронов в синхронизацию различен [12].

В бочонке сенсомоторной коры мышей во время активации вибриссы и в покое наблюдалась синхронизация активности между пирамидными нейронами и экспрессирующими парвальбумин PV, нейроглиаформными интернейронами за счет синаптических связей. Высокая степень синхронизации наблюдалась и между интернейронами в условиях спокойного и активного бодрствования [37].

В экспериментальной работе были получены данные о том, что синхронизация спайков пирамидных нейронов происходит в значительной степени за счет обратных связей между парвальбуминовыми позитивными интернейронами и пирамидными нейронами [101].

Необходимо отметить, что фактически совместное существование химических и электрических синапсов в интернейронах зрелой коры важно для генерации синхронной активности [23].

#### *4.3. Пространственная синхронизация через общий возбуждающий вход*

Пространственная синхронизация нейронов в разных областях коры может создаваться, когда на общий возбуждающий вход пирамидных нейронов одновременно подаются сигналы от сенсор-

ных структур или других областей, в частности от таламуса через активацию ГАМК Б-рецепторов [17].

Синхронизация активности соседних возбуждающих клеток и интернейронов может происходить в результате стимуляции общего входа. Действительно, стимуляция пирамидальных клеток слоя 2/3 индуцировала синхронные ВПСП с постоянной латентностью в обеих клетках в паре пирамида/интернейрон [86].

#### *4.4. Реципрокные связи как механизм синхронизации*

Были предложены механизмы синхронизации при генерации высокочастотных ритмов, которые заключаются в том, что в нейронных сетях существуют конвергенция и дивергенция связей между пирамидными нейронами и FS-интернейронами, которые приводят к синхронизации синаптических входов и разрядов потенциалов действия в соседних клетках. Конвергенция связей от пирамидных нейронов к FS-интернейронам по обратным связям может быть особенно важна для синхронизации клеток FS [101].

Используя оригинальный метод оптогенетической стимуляции тормозных клеток Мартинотти, стимул запускался активностью пирамидной клетки. Последовательность спайков соседних, не связанных между собой пирамидных нейронов 5-го слоя становится синхронной посредством торможения клетками Мартинотти. Синхронизация осуществляется благодаря обратным связям клеток Мартинотти через дендриты пирамидных нейронов 5-го слоя [44].

В экспериментах регистрировалась активность двух соседних пирамидных нейронов в срезе коры мышей. Активность одной из пирамидных клеток через систему приборов вызывала световой стимул, который в свою очередь вызывал активность SOM-интернейронов. В результате чего между пирамидными нейронами наблюдалась синхронизация активности. Эти эксперименты на животных показали, что в зрительной коре нейронная сеть, состоящая из обратных связей пирамидных нейронов и SOM-интернейронов через дендриты синхронизируют активность возбуждающих нейронов. Задача этих экспериментов состояла в том, чтобы выявить участие нейронов SOM в гамма-колебаниях на больших расстояниях в первичной зрительной коре, и что они также могут играть ключевую роль в межобластной гамма-синхронизации. Это согласуется с тем фактом, что нейроны SOM в первичной зрительной коре, как было показано, входят в число мишеней для дальнедействующего нисходящего входа из областей более высокого кортикального слоя. Нейроны SOM могут также способствовать

локальным гамма-колебаниям в других областях мозга [116].

Взаимодействия между ГАМКергическими интернейронами и глутаматергическими основными клетками являются взаимными: интернейроны тормозят пирамидные клетки и возбуждаются ими. На самом деле связь между этими двумя нейронными классами достаточно большая: отдельные интернейроны могут тормозить >50% пирамидных клеток, расположенных в пределах ~100 мкм, и получать возбуждающий сигнал от большей их части.

Торможение напрямую связано не только с генерацией быстрых колебаний (осцилляций), но также с синхронизацией нейронов, установлением скорости колебаний и поддержанием их когерентности в пространстве, которые основываются на реципрокных связях пирамидных нейронов и интернейронов. Тот факт, что отдельные корзинчатые клетки контактируют с очень большой частью соседних (то есть в пределах ~100 мкм) пирамидальных клеток и что отдельные пирамидальные клетки в свою очередь связываются со многими локальными тормозными нейронами, приводит к синхронному вовлечению больших популяций нейронов в колебание. Возможен и альтернативный механизм, основанный на взаимодействиях между тормозными нейронами, когда корзинчатые клетки взаимосвязаны через реципрокные тормозящие синапсы [46].

В 5-ом слое фронтальной коры крыс были исследованы связи между двумя типами пирамидных нейронов, FS и LTS интернейронов, которые представляют два наибольших подтипа ГАМКергических нейронов — парвальбуминовые (PV) и соматостатиновые (SOM) интернейроны соответственно. Было обнаружено, что оба подтипа интернейронов образуют обратные связи с пирамидными нейронами [77].

Как следует из наших неопубликованных данных, полученных в экспериментах, проведенных на модели интериктальной активности в коре, после блока ГАМК A-рецепторов в локальных участках коры (рис. 1а) возникают высокоамплитудные интериктальные спайки. Существенно,

что в течение первоначального временного периода интериктальные спайки возникают в разные моменты времени в разных участках коры. Длительность тормозной фазы, следующей непосредственно после спайка в разных участках коры, были короткие. После того, как они начали возникать синхронно, длительность тормозной фазы интериктального спайка, возникающего первым, была длиннее, чем ранее до синхронизации и значительно длиннее чем у интериктального спайка, возникающего в соседнем участке коры с временной задержкой (рис. 1б, 1в).

Большая амплитуда интериктальных спайков создается за счет одновременной активности нейронов в локальном участке коры в течение короткого временного окна. В самом начале одновременная активность нейронов может происходить, как показали наши данные, полученные на симуляционной модели в результате случайного совпадения активности группы нейронов в пуле, имеющих одинаковые временные параметры фаз возбуждения и торможения [2]. В данном случае наблюдается локальная синхронизация (рис. 1а). Мы предполагаем, что значительное удлинение тормозной фазы связано с действием обратного торможения, осуществляемого нейронными сетями находящихся на удалении друг от друга. Таким образом, создается временное окно интеграции, одновременно возникающее в коре, за счет обратных связей между пирамидными клетками и интернейронами и между интернейронами.

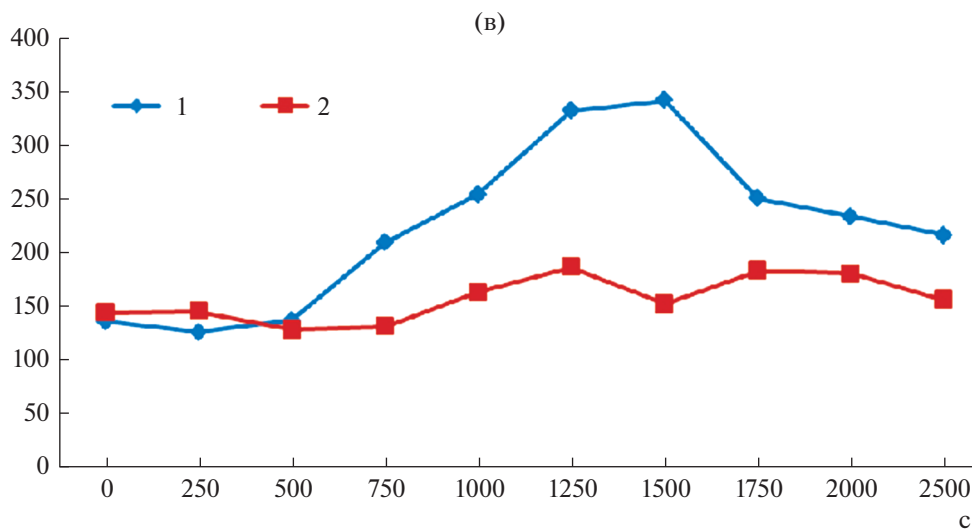
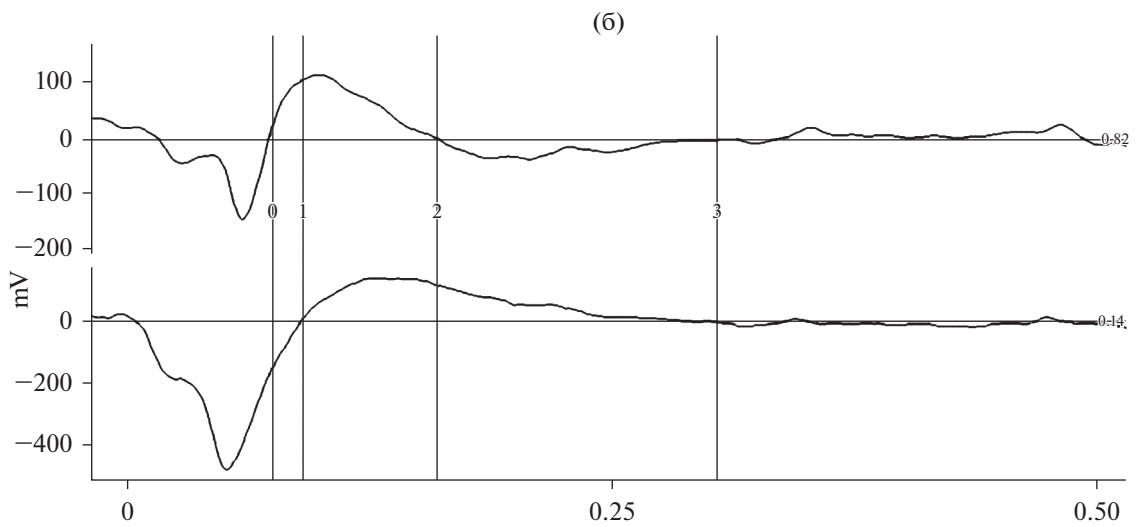
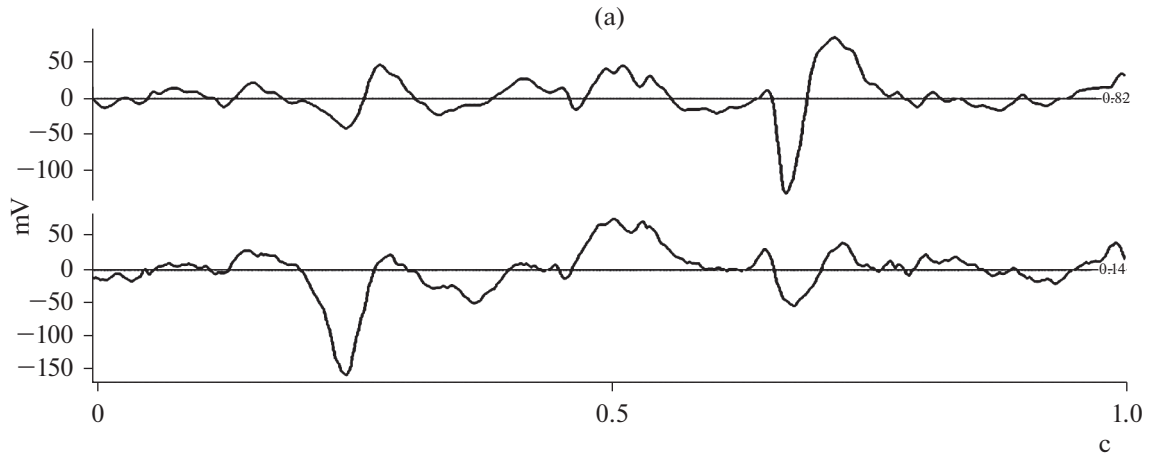
#### 4.5. Временное окно как механизм интеграции, отражением которой является синхронизация электрической активности

Джон К. Экклс, писал: “Я всегда думаю, что торможение — это процесс создания скульптуры. Как бы то ни было, торможение высекает массу возбуждающего действия и придает более специфическую форму работе нейронов на каждом этапе синаптической ретрансляции” (Eccles, 1977). В данном высказывании содержится идея о создании торможением определенных рамок.

Временное окно в коре создается несколькими способами. Небольшое отставание между воз-

**Рис. 1.** Изменение длительности тормозной фазы интериктального спайка. (а). Верхняя панель — длительность фаз интериктального спайка в двух точках коры, расположенных на расстоянии 2 мм сразу после нанесения пенициллина. Синхронизация полностью отсутствует. Короткая длительность тормозных фаз. (б). Средняя панель — ситуация через 1250 с на (в). Максимальная степень синхронизации в данном эксперименте. Спайк сначала возникает на нижнем канале, и длительность тормозной фазы в два раза длиннее, чем на верхнем. (в). Нижняя панель — изменение длительностей тормозных фаз в течение эксперимента. Существенно, что чем больше степень синхронизации, тем длинней тормозная фаза после интериктального спайка

**Fig. 1.** Change of duration of the inhibitory phase of interictal spike. (a) Upper panel — the duration of the phases of interictal spike in two points of the cortex, located at a distance of 2 mm immediately after application of penicillin. Synchronization is completely absent. Short duration of inhibitory phases. (b) Middle panel — situation in 1250 seconds on B. Maximum degree of synchronization in this experiment. The spike first occurs on the lower channel and the inhibitory phase is twice as long as on the upper channel. (v) Bottom panel — change of duration of the inhibitory phases during the experiment. It is important to note that the greater the degree of synchronization, the longer is the inhibitory phase after interictal spike.



буждением и торможением создает короткое окно, в течение которого возможна интеграция синаптического возбуждения и последующего исчезновением спайков, что делает пирамидные клетки точными детекторами совпадений аффе-

рентного входа. Предполагалось, что наиболее вероятным механизмом синхронизации интериктальных спайков в нейронных сетях коры является создание с помощью торможения узкого временного окна, в течение которого возможна ак-

тивность нейронов [78] и соответственно их интеграция, отражением которой является синхронизация.

Наличие мощного прямого торможения, предшествующего эпипептиформным потенциалам, было показано в работах, в которых большинству иктальных событий предшествовало торможение, регистрируемое внутриклеточно в клетках, расположенных на расстоянии 300 мкм друг от друга [110, 111]. После окончания торможения происходит взрыв активности в нейронном пуле, который определяется уже своими внутренними механизмами.

У пирамидных нейронов стимуляция током вызывала постсинаптические потенциалы периформной коры – короткую деполяризацию с последующей гиперполяризацией длительностью несколько сот миллисекунд, которая связана с ГАМК Б-рецепторами [39].

В сенсорных областях коры торможение укорачивает возбуждение, возникающее на сенсорную стимуляцию. Небольшое отставание между возбуждением и торможением создает короткое окно, дающее возможность для интеграции синаптического возбуждения и последующего выхода спайков и таким образом делает возбуждающие нейроны точными детекторами совпадений афферентного входа [46] и таким образом создает условия для одновременной активности нейронов в корковых нейронных сетях.

У нейронов слуховой коры крыс торможение на звуковую стимуляцию возникает после возбуждения с временной задержкой в несколько миллисекунд и таким образом может обострять нейронные ответы во времени, уменьшая степень случайности в функционировании коры, и кроме того создает короткое временное окно в течение которого возможна интеграция возбуждения нейронов [120].

Электрофизиологические данные свидетельствуют о том, что рецепторы ГАМК Б, экспрессируемые нейроглиаформными интернейронами, способствуют динамическому контролю возбуждающего входа в пирамидные нейроны CA1 гиппокампа. Поэтому связь нейроглиаформных клеток с пирамидными нейронами CA1 обеспечивает уникальный и тонкий механизм формирования временной области интеграции для сигналов, поступающих через главный возбуждающий вход в пирамидные клетки CA1. Нейроглиаформные клетки в гиппокампе с помощью прямого торможения участвуют в регуляции временного окна интеграции, подавляя освобождение ГАМК. Предполагается, что синхронное высвобождение ГАМК из нескольких интернейронов необходимо для активации рецепторов ГАМК в синапсах гиппокампа [93].

Следует отметить, что временные параметры интериктальных спайков – период возбуждения с последующей фазой молчания являются неким универсальным явлением, которые наблюдаются при других функциональных состояниях коры. Похожая динамика возбуждения и торможения существует при медленных осцилляциях и в состоянии UP и DOWN states в коре. Эти состояния характерны тем, что кратковременный период возбуждения сменяется периодом молчания. Ответственным за этот период является обратное торможение.

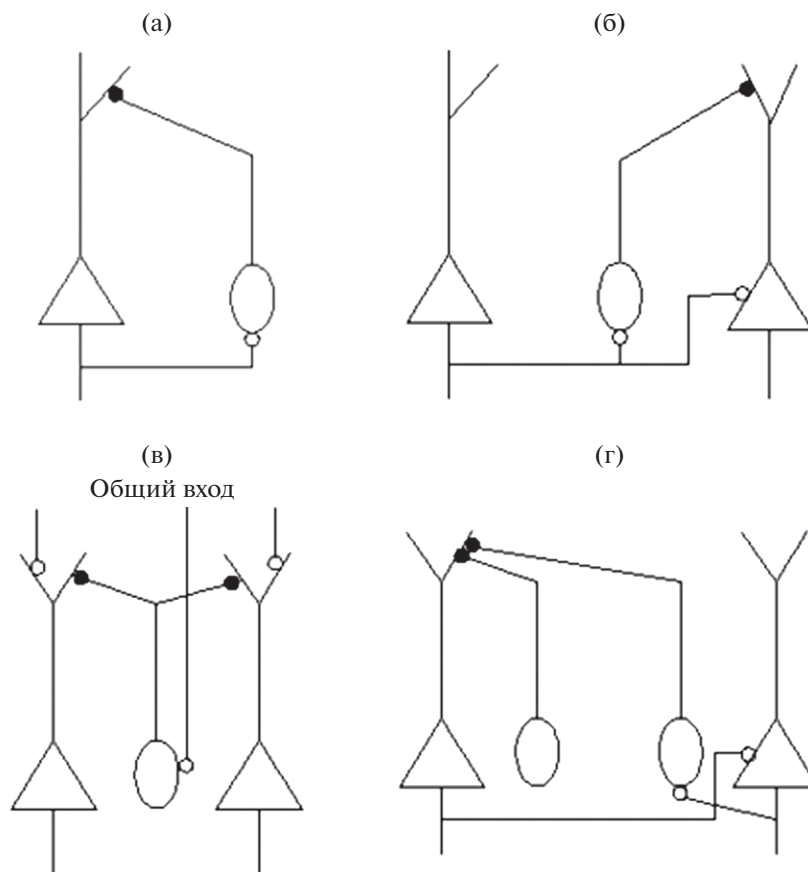
**4.5.1. Торможение создает временные окна при медленных осцилляциях.** В пионерской работе Стериада с соавторами были обнаружены медленные осцилляции в пирамидных нейронах коры меньше 1 Гц. Существенно, что следующие за периодами длительной деполяризации длительные периоды гиперполяризации у соседних нейронов были синхронизированы [106]. Также было показано, что во время медленных осцилляций в нейронах коры периоды деполяризации и длительной гиперполяризации отражаются в волнах ЭЭГ [18].

Отметим, что в генерации медленной активности непосредственное участие принимали ГАМК Б рецепторы. Медленная кинетика рецепторов ГАМК Б аналогична медленным течениям состояний Up и Down, позволяя рецепторам ГАМК Б оказывать сильный синаптический эффект и таким образом контролировать частоту и синхронизацию медленных колебаний [60].

**4.5.2. Временные окна при UP, DOWN states.** У пирамидных нейронов в неокортексе крысы наблюдались флуктуации мембранного потенциала, когда гиперполяризованные периоды покоя чередуются с деполяризованными периодами с большими колебаниями напряжения и пиковой активностью. Такие деполяризованные и гиперполяризованные периоды были названы состояниями “вверх” и “вниз” (UP DOWN states) при первом их описании (Steriade). В данном случае период деполяризации рассматривался как временное окно интеграции [65].

Исследования роли соматостатин-экспрессирующих интернейронов показали, что в неокортексе может происходить разделение труда между ними и экспрессирующими парвальбумин (PV) FS-тормозными клетками, и они показали, что SOM-клетки могут способствовать прекращению UP-состояний, тогда как FS-клетки имеют меньше шансов сделать это. В пирамидных клетках возникает сильная гиперполяризация в ответ на активность SOM-интернейронов во время UP states. Кроме того, между этими нейронами существуют реципрокные связи [29].

В создании Up and Down states в энторинальной коре непосредственное участие принимают



**Рис. 2.** Схемы функциональных связей в коре между возбуждаемыми (пирамиды) и тормозными нейронами (овалы), обеспечивающие синхронизацию интериктальных спайков, составленная на основании экспериментальных данных. Торможение осуществляется посредством ГАМК B рецепторов (черные кружки) интернейронами экспрессирующими соматостатин (SOM), парвальбумин (PV), vasoactive intestinal peptide (VIP) и нейроглиаформными клетками (NGFC). (а) – Связи, обеспечивающие периодическую активность посредством обратных связей. (б) – Создание временного окна у соседних нейронов в локальной нейронной сети. (в) – Синхронизация через общий вход с созданием временного окна. (г) – Функциональные связи, которые обеспечивают синхронизацию интериктальных спайков между нейронными сетями расположенными на расстоянии с помощью создания временного окна и обратных связей. Каждый нейрон на схемах представляет нейронную популяцию. Все функциональные связи на (а), (б), (в) и (г) действуют одновременно и раздельно представлены для наглядности.

**Fig. 2.** Schemes of functional connections in the cortex between excitatory (pyramids) and inhibitory neurons (ovals), providing synchronization of interictal spike made on the basis of experimental data. Inhibition is performed by GABA B receptors (black circles) by interneurons expressing somatostatin (SOM), parvalbumin (PV), vasoactive intestinal peptide (VIP) and neurogliform cells (NGFC). (a) – connections that provide periodic activity through feedback. (б) – creation of time window for neighboring neurons in the local neural network. (v) – synchronization through the common input with creation of a time window. (r) – functional connections, which provide synchronization of interictal spike between neural networks located at a distance by creating a time window and feedback. Each neuron in the schemes represents a neural population. All functional connections on (a), (б), (v) and (r) operate simultaneously and are presented separately for illustration.

ГАМК B-рецепторы и, в частности, в завершении UP states через обратные связи. Блокировка ГАМК B-рецепторов удлиняет UP states [60]. Таким образом создается временное окно интеграции.

Во время медленной волны сна как спонтанное, так и вызванное прекращение UP state в срезах медиальной энторинальной коры крысы происходит с участием ГАМК B-рецепторов. ГАМК B-рецепторы, содержащие субъединицу ГАМК B 1a, модулируют время прекращения спонтанного UP state, а рецепторы, содержащие субъединицу ГАМК B 1b, необходимы для прекращения состо-

яния UP state при электрической стимуляции в слое 1, то есть через афферентные входы [19].

**4.5.3. Создание временного окна клетками Мартинотти, осуществляющие торможение посредством ГАМК B-рецепторов.** Одним из свойств нейронных сетей коры при синхронизации активности является создание временного окна интеграции с непосредственным участием торможения, создаваемого интернейронами связанными с ГАМК B-рецепторами. Известный класс кортикальных тормозных интернейронов, которые экспрессируют соматостатин (SOM) – клетки

Мартинотти имеют несколько характеристик, которые могут объяснить синхронную индукцию периодов выключения и связанных медленных волн в отсутствие соматического торможения. Так, у бодрствующих мышей было показано, что SOM+ экспрессирующие интернейроны (клетки Мартинотти) в коре разряжаются перед медленной волной, и при их оптогенетической стимуляцией во время ON периода в фазе медленного сна запускают длительный OFF период (гиперполяризации). Кроме того, клетки Мартинотти имеют уникально широкие и сложные аксональные образования [119], которые могут объяснить широкую синхронность медленных волн сна. Кроме этого, хемогенетическая активация клеток SOM+ способствует появлению медленных волн, которые электрофизиологически напоминают таковые в естественном сне NREM, что является признаком усиления нейронной синхронизации [34].

**4.5.4. Обратные функциональные связи как механизм создания временного окна и синхронизации в локальных и пространственных нейронных сетях коры.** При блокаде ГАМК А-рецепторов уменьшается соматическое торможение и появляется синхронизированная активность интериктальных спайков [1]. В основе появления данной активности, как было показано выше, лежит возвратное торможение посредством интернейронов Мартинотти, имеющих синапсы на апикальных дендритах пирамидных нейронов 1-го слоя коры [44, 104]. Ранее было показано сходство между механизмами возникновения интериктальных спайков и действием возвратного торможения в коре посредством клеток Мартинотти [124].

## 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании теоретических и экспериментальных данных разных авторов, представленных выше, можно предположить следующие схемы функциональных связей нейронов в коре, на основании которых может происходить интеграция в нейронных сетях, которая находит свое отражение в синхронизации интериктальных спайков в корковых структурах.

**5.1. Первый тип функциональных связей** (рис. 2а) представляет собой схема обратных связей между возбуждающими клетками и тормозными интернейронами, и хотя эти связи непосредственно не связаны с синхронизацией активности, они являются важным элементом внутрикорковых связей. Основное их назначение заключается в создании периодической активности. Это осцилляции Up and Down states и интериктальные спайки, которые почти всегда синхронизированы.

**5.2. Второй тип функциональных связей** между нейронными сетями (рис. 2б) создает временное окно интеграции прямым дисинаптическим тор-

можением в локальной нейронной сети в пределах 100 мк. В этом процессе создания как медленного, так и быстрого дисинаптического ТПСР участвуют преимущественно соматостатиновые и парвальбуминовые соответственно. Временное окно создается следующим образом. Активация пресинаптических пирамидных нейронов существенно увеличивает амплитуду и сокращает латентность начала медленного дисинаптического ТПСР в соседних пирамидных нейронах, что приводит к сужению временного окна для интеграции ВПСР. Обратное торможение может регулировать временное окно интеграции возбуждающих входов, обеспечивая, таким образом, механизм контроля по обратным связям времени генерирования спайков в пирамидных нейронах [124].

**5.3. Третий тип функциональных связей** (рис. 2в). Временное окно интеграции как в локальной нейронной сети, так и в различных областях может создаваться в результате внешнего воздействия на общий вход от сенсорных или других областей коры. В данном случае время одновременной активности определяется прямым и обратным торможением.

**5.4. Четвертый тип функциональных связей.** Удлинение торможения за счет обратного торможения от нейронов, расположенных на расстоянии (рис. 2г). При увеличении амплитуды интериктального спайка другие нейроны локальной нейронной сети могут быть активны только в момент, совпадающий по времени с активностью лидеров (временное окно), а активность остальных после временного окна тормозится с помощью обратного торможения, в результате чего происходит лавинное вовлечение соседних нейронов и увеличение амплитуды интериктальных спайков до максимума.

Отметим, что все эти функциональные связи работают одновременно, а отдельно представлены на рис. 2 для наглядности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Марченко В.Г., Зайченко М.И. Динамика пространственной синхронизации эпилептиформных разрядов в неокортексе крыс // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2015. Т. 65. № 1. С. 113.
2. Марченко В.Г., Салтыков К.А. Механизмы синхронизации в локальных нейронных сетях неокортекса. Модельные и экспериментальные исследования // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2010. Т. 60. № 1. С. 80.
3. Марченко В.Г., Рысакова М.П., Зайченко М.И. Распространение внутренних электрических полей как возможный механизм синхронизации интериктальных спайков в неокортексе крыс // Журн. высш. нерв. деят. им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. № 2. С. 250.

4. Aronoff R., Matyas F., Mateo C. et al. Longrange connectivity of mouse primary somatosensory barrel cortex // *Eur. J. Neurosci.* 2010. V. 31. № 12. P. 2221.
5. Ascoli G.A., Alonso-Nanclares L., Anderson S.A., Barriounevo G., Benavides-Piccione R., Burkhalter A., Buzsaki G. et al. Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex // *Nat Rev Neurosci.* 2008. V. 9. № 7. P. 557.
6. Avoli M. Mechanisms of epileptiform synchronization in cortical neuronal networks// *Curr Med Chem.* 2014. V. 21. № 6. P. 653.
7. Avoli M., de Curtis M., Gnatkovsky V. et al. Specific imbalance of excitatory/inhibitory signaling establishes seizure onset pattern in temporal lobe epilepsy// *J. Neurophysiol.* 2016. V. 115. № 6. P. 3229–3237.
8. Barbarosie M., Avoli M. CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures // *J. Neurosci.* 1997. V. 17. № 23. P. 9308–9314.
9. Benardo L.S. Separate activation of fast and slow inhibitory postsynaptic potentials in rat neocortex *in vitro* // *J. Physiol (Lond).* 1994. V. 476. P. 203–215.
10. Berger T.K., Silberberg G., Perin R., Markram H. Brief bursts self-inhibit and correlate the pyramidal network // *PLoS Biol.* 2010. V. 8. № 9. e1000473.
11. Bink H., Sedigh-Sarvestani M., Fernandez-Lamo I. et al. Spatiotemporal Evolution of Focal Epileptiform Activity From Surface and Laminar Field Recordings in Cat Neocortex // *J. Neurophysiol.* 2018. V. 119. № 6. P. 2068–2081.
12. Bohannon A.S., Hablitz J.J. Optogenetic dissection of roles of specific cortical interneuron subtypes in GABAergic network synchronization // *J. Physiol.* 2018. V. 596. № 5. P. 901–919.
13. Booker S.A., Althof D., Degro C.E. et al. Differential surface density and modulatory effects of presynaptic GABAB receptors in hippocampal cholecystokinin and parvalbumin basket cells // *Brain Struct. Funct.* 2017. V. 222. № 8. P. 3677–3690.
14. Booker S.A., Loreth D., Gee A.L. et al. Postsynaptic GABABRs Inhibit L-Type Calcium Channels and Abolish Long-Term Potentiation in Hippocampal Somatostatin Interneurons // *Cell Rep.* 2018. V. 22. № 1. P. 36–43.
15. Caputi A., Melzer S., Michael M., Monyer H. The long and short of GABAergic neurons // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013. V. 23. № 2. P. 179–186.
16. Chauvière L., Doublet T., Ghestem A. et al. Changes in interictal spike features precede the onset of temporal lobe epilepsy // *Ann. Neurol.* 2012. V. 71. № 6. P. 805–814.
17. Chittajallu R., Pelkey K.A., McBain C.J. Neurogliaform cells dynamically regulate somatosensory integration via synapse-specific modulation // *Nat. Neurosci.* 2013. V. 16. № 1. P. 13–15.
18. Contreras D., Timofeev I., Steriade M. Mechanisms of long-lasting hyperpolarizations underlying slow sleep oscillations in cat corticothalamic networks // *J. Physiol.* 1996. V. 494 (Pt 1). P. 251–264.
19. Craig M.T., Mayne E.W., Bettler B., Paulsen O., McBain C.J. Distinct roles of GABAB1a- and GABAB1b-containing GABAB receptors in spontaneous and evoked termination of persistent cortical activity // *J. Physiol.* 2013. V. 591. № 4. P. 835–843.
20. Craig M.T., McBain C.J. The emerging role of GABAB receptors as regulators of network dynamics: fast actions from a 'slow' receptor // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2014. V. № 26. P. 15–21.
21. Craig M.T., McBain C.J. Navigating the Circuitry of the Brain's GPS System: Future Challenges for Neurophysiologists // *Hippocampus.* 2015. V. 25. № 6. P. 736–743.  
<https://doi.org/10.1002/hipo.22456>
22. D'Antuono M., Louvel J., Köhling R et al. GABAA receptor-dependent synchronization leads to ictogenesis in the human dysplastic cortex // *Brain.* 2004. V. 127 (Pt 7). P. 1626–1640.
23. Deans M.R., Gibson J.R., Sellitto C., Connors B.W., Paul D.L. Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36 // *Neuron.* 2001. V. 31. № 3. P. 477–485.
24. de Curtis M., Avanzini G. Interictal spikes in focal epileptogenesis // *Prog. Neurobiol.* 2001. V. 63. № 5. P. 541–567.
25. de Curtis M., Avoli M. GABAergic networks jump-start focal seizures // *Epilepsia.* 2016. V. 57. № 5. P. 679–687.
26. de Curtis M., Radici C., Forti M. Cellular mechanisms underlying spontaneous interictal spikes in an acute model of focal cortical epileptogenesis // *Neuroscience.* 1999. V. 88. № 1. P. 107–117.
27. DeFelipe J., López-Cruz P.L., Benavides-Piccione R. et al. New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons // *Nat. Rev. Neurosci.* 2013. V. 14. № 3. P. 202–216.
28. Dorn T., Witte O.W. Refractory periods following interictal spikes in acute experimentally induced epileptic foci // *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1995. V. 94. № 1. P. 80–85.
29. Fanselow E.E., Connors B.W. The roles of somatostatin-expressing (GIN) and fast-spiking inhibitory interneurons in UP-DOWN states of mouse neocortex // *J. Neurophysiol.* 2010. V. 104. № 2. P. 596–606.
30. Fanselow E.E., Richardson K.A., Connors B.W. Selective, state-dependent activation of somatostatin-expressing inhibitory interneurons in mouse neocortex // *J. Neurophysiol.* 2008. V. 100. № 5. P. 2640–2652.
31. Feldmeyer D., Brecht M., Helmchen F. et al. Barrel cortex function // *Progress in Neurobiology.* 2013. V. 103. P. 3–27.
32. Feldmeyer D., Qi G., Emmenegger V., Staiger J.F. Inhibitory interneurons and their circuit motifs in the many layers of the barrel cortex // *Neuroscience.* 2018. V. 368. P. 132–151.
33. Fino E., Yuste R. Dense inhibitory connectivity in neocortex // *Neuron.* 2011. V. 69. № 6. P. 1188–1203.
34. Funk C.M., Peelman K., Bellesi M. et al. Role of Somatostatin-Positive Cortical Interneurons in the Genera-

- tion of Sleep Slow Waves // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 38. P. 9132–9148.
35. Fröhlich F., McCormick D. Endogenous Electric Fields May Guide Neocortical Network Activity // *Neuron.* 2010. V. 67. № 1. P. 129–143.
  36. Galarreta M., Hestrin S. Spike transmission and synchrony detection in networks of GABAergic interneurons // *Science.* 2001. V. 292. № 5525. P. 2295–2299.
  37. Gentet L.J., Avermann M., Matyas F., Staiger J.F., Petersen C.C. Membrane potential dynamics of GABAergic neurons in the barrel cortex of behaving mice // *Neuron.* 2010. V. 65. № 3. P. 422–435.
  38. Gentet L.J., Kremer Y., Taniguchi H. et al. Unique functional properties of somatostatin-expressing GABAergic neurons in mouse barrel cortex // *Nat. Neurosci.* 2012. V. 15. № 4. P. 607–612.
  39. Gerrard L.B., Tantirigama M.L.S., Bekkers J.M. Pre- and Postsynaptic Activation of GABAB Receptors Modulates Principal Cell Excitation in the Piriform Cortex // *Front. Cell Neurosci.* 2018. V. 12. P. 28.
  40. Gibson J.R., Beierlein M., Connors B.W. Functional properties of electrical synapses between inhibitory interneurons of neocortical layer 4 // *J. Neurophysiol.* 2005. V. 93. № 1. P. 467–480.
  41. Goldberg J.H., Lacefield C.O., Yuste R. Global dendritic calcium spikes in mouse layer 5 low threshold spiking interneurons: implications for control of pyramidal cell bursting // *J. Physiol.* 2004. V. 558 (Pt 2). P. 465–478.
  42. Gonchar Y., Pang L., Malitschek B., Bettler B., Burkhalter A. Subcellular localization of GABA(B) receptor subunits in rat visual cortex // *J. Comp. Neurol.* 2001. V. 431. № 2. P. 182–197.
  43. Gray C.M., Singer W. Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1989. V. 86. № 5. P. 1698–1702.
  44. Hilscher M.M., Leão R.N., Edwards S.J., Leão K.E., Kullander K. Chrna2-Martinotti Cells Synchronize Layer 5 Type A Pyramidal Cells via Rebound Excitation // *PLoS Biol.* 2017. V. 15. № 2. e2001392.
  45. Hu H., Agmon A. Properties of precise firing synchrony between synaptically coupled cortical interneurons depend on their mode of coupling // *J. Neurophysiol.* 2015. V. 114. № 1. P. 624–637.
  46. Isaacson J.S., Scanziani M. How inhibition shapes cortical activity // *Neuron.* 2011. V. 72. № 2. P. 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.027>
  47. Jiang X., Wang G., Zhu J. The Organization of Two New Cortical Interneuronal // *Circuits Nat. Neurosci.* 2013. V. 16. № 2. P. 210–218.
  48. Jiang X., Shen S., Cadwell C.R. et al. Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex // *Science.* 2015. V. 350. № 6264. aac9462.
  49. Kapfer C., Glickfeld L.L., Atallah B.V., Scanziani M. Supralinear increase of recurrent inhibition during sparse activity in the somatosensory cortex // *Nat. Neurosci.* 2007. V. 10 P. 743–753.
  50. Karagiannis A., Gallopin T., David C. et al. Classification of NPY-expressing neocortical interneurons // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. № 11. P. 3642–3659.
  51. Karnani M.M., Jackson J., Ayzenshtat I. et al. Opening holes in the blanket of inhibition: localized lateral disinhibition by VIP interneurons // *J. Neurosci.* 2016. V. 36. P. 3471–3480.
  52. Karnani M.M., Jackson J., Ayzenshtat I. et al. Cooperative Subnetworks of Molecularly Similar Interneurons in Mouse Neocortex // *Neuron.* 2016. V. 90. № 1. P. 86–100.
  53. Karube F., Kubota Y., Kawaguchi Y. Axon branching and synaptic bouton phenotypes in GABAergic nonpyramidal cell subtypes // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. № 12. P. 2853–2865.
  54. Kawaguchi Y., Karube F. and Kubota Y. Dendritic branch typing and spine expression patterns in cortical nonpyramidal cells // *Cerebral Cortex.* 2006. V. 16. P. 696–711. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj015>
  55. Kawaguchi Y., Kubota Y. Physiological and morphological identification of somatostatin- or vasoactive intestinal polypeptide-containing cells among GABAergic cell subtypes in rat frontal cortex // *J. Neurosci.* 1996. V. 16. № 8. P. 2701–2715.
  56. Kawaguchi Y., Kubota Y. GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex // *Cereb. Cortex.* 1997. V. 7. № 6. P. 476–486.
  57. Kawaguchi Y., Shindou T. Noradrenergic excitation and inhibition of gabaergic cell types in rat frontal cortex // *J. Neuroscience.* 1998. V. 18. № 17. P. 6963–6976.
  58. Koelbl C., Helmstaedter M., Lübke J., Feldmeyer D. A barrel-related interneuron in layer 4 of rat somatosensory cortex with a high intrabarrel connectivity // *Cerebral Cortex* 2015. V. 25. P. 713–725 <https://doi.org/10.1093/cercor/bht263>
  59. Köhling R., D'Antuono M., Benini R., de Guzman P., Avoli M. Hypersynchronous ictal onset in the perirhinal cortex results from dynamic weakening in inhibition // *Neurobiol. Dis.* 2016. V. 87. P. 1–10.
  60. Kohl M.M., Paulsen O. The roles of GABAB receptors in cortical network activity // *Adv. Pharmacol.* 2010. V. 58. P. 205–229.
  61. Large A.M., Vogler N.W., Mielo S., Oswald A.M. Inhibition by Somatostatin Interneurons in Olfactory Cortex // *Front. Neural Circuits.* 2016. V. 10. P. 62.
  62. Lee S.H., Hjerling-Leffler J., Zagha E., Fishell G., Rudy B. The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 50. P. 16796–16808.
  63. Lee S., Kruglikov I., Huang Z.J., Fishell G., Rudy B. A disinhibitory circuit mediates motor integration in the somatosensory cortex // *Nat. Neurosci.* 2013. V. 16. № 11. P. 1662–1670.
  64. Lee A.J., Wang G., Jiang X. et al. Canonical Organization of Layer 1 Neuron-Led Cortical Inhibitory and Disinhibitory Interneuronal Circuits // *Cereb. Cortex.* 2015. V. 25. № 8. P. 2114–2126.



65. *Le'ger J-F., Stern E.A., Aertsen Ad, Heck D.* Synaptic integration in rat frontal cortex shaped by network activity // *J. Neurophysiol.* 2005. V. 93. P. 281–293.
66. *Librizzi L., de Curtis M.* Epileptiform ictal discharges are prevented by periodic interictal spiking in the olfactory cortex // *Ann. Neurol.* 2003. V. 53. № 3. P. 382–389.
67. *Lim D.H., Mohajerani M.H., Ledue J. et al.* In vivo Large-Scale Cortical Mapping Using Channelrhodopsin-2 Stimulation in Transgenic Mice Reveals Asymmetric and Reciprocal Relationships between Cortical Areas // *Front. Neural Circuits.* 2012. V. 6. P. 11.
68. *Lillis K.P., Kramer M.A., Mertz J., Staley K.J., White J.A.* Pyramidal cells accumulate chloride at seizure onset // *Neurobiol. Dis.* 2012. V. 47. № 3. P. 358–366.
69. *Liu L., Ito W., Morozov A.* GABA<sub>B</sub> Receptor Mediates Opposing Adaptations of GABA Release From Two Types of Prefrontal Interneurons After Observational Fear // *Neuropsychopharmacology.* 2017. V. 42. № 6. P. 1272–1283.
70. *Ma Y., Hu H., Berrebi A.S., Mathers P.H., Agmon A.* Distinct subtypes of somatostatin-containing neocortical interneurons revealed in transgenic mice // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. № 19. P. 5069–5082.
71. *Mancilla J.G., Lewis T.J., Pinto D.J., Rinzel J., Connors B.W.* Synchronization of electrically coupled pairs of inhibitory interneurons in neocortex // *J. Neurosci.* 2007. V. 27: P. 2058–2073.
72. *Mann E.O., Radcliffe C.A., Paulsen O.* Hippocampal gamma-frequency oscillations: from interneurons to pyramidal cells, and back // *Physiol.* 2005. V. 562 (Pt 1). P. 55–63.
73. *Mao T., Kusefoglu D., Hooks B.M., Huber D., Petreanu L., Svoboda K.* Longrange neuronal circuits underlying the interaction between sensory and motor cortex. *Neuron.* 2011. 72. № 1. P. 111–123.
74. *Matyas F., Sreenivasan V., Marbach F. et al.* Motor Control by Sensory Cortex // *Science.* 2010. V. 330. P. 1240.
75. *McDonald A.J., Mascagni F., Muller J.F.* Immunocytochemical localization of GABABR1 receptor subunits in the basolateral amygdala // *Brain Res.* 2004. V. 1018. P. 147–158.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004>
76. *Melzer S., Michael M., Caputi A., Eliava M., Fuchs E.C., Whittington M.A., Monyer H.* Long-range-projecting GABAergic neurons modulate inhibition in hippocampus and entorhinal cortex // *Science.* 2012. V. 335. P. 1506–1510.
77. *Morishima M., Kobayashi K., Kato S., Kobayashi K., Kawaguchi Y.* Segregated Excitatory-Inhibitory Recurrent Subnetworks in Layer 5 of the Rat Frontal Cortex // *Cereb. Cortex.* 2017. V. 27. № 12. P. 5846–5857.
78. *Muldoon S.F., Villette V., Tressard T.F. et al.* GABAergic inhibition shapes interictal dynamics in awake epileptic mice // *Brain.* 2015. V. 138 (Pt 10). P. 2875–2890.
79. *Murayama M., Pérez-Garci E., Nevian T., Bock T., Senn W., Larkum M.E.* Dendritic encoding of sensory stimuli controlled by deep cortical interneurons // *Nature.* 2009. V. 457. № 7233. P. 1137–1141.
80. *Naka A., Adesnik H.* Inhibitory Circuits in Cortical Layer 5 // *Front. Neural Circuits.* 2016. V. 10. P. 35.
81. *Neske G.T., Patrick S.L., Connors B.W.* Contributions of diverse excitatory and inhibitory neurons to recurrent network activity in cerebral cortex // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. № 3. P. 1089–1105.
82. *Nicoll R.A., Malenka R.C., Kauer J.A.* Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central nervous system // *Physiol. Rev.* 1990. V. 70. № 2. P. 513–565.
83. *Nigro M.J., Hashikawa-Yamasaki Y.I., Rudy B.* Diversity and Connectivity of Layer 5 Somatostatin-Expressing Interneurons in the Mouse Barrel Cortex // *J. Neurosci.* 2018. V. 38. № 7. P. 1622–1633.
84. *Oláh S., Füle M., Komlósi G. et al.* Regulation of cortical microcircuits by unitary GABAergic volume transmission // *Nature.* 2009. V. 461. № 7268. P. 1278–1281.
85. *Oláh S., Komlósi G., Szabadics J., Varga C., T'oth E., Barzo P., Tamás G.* Output of neurogliaform cells to various neuron types in the human and rat cerebral cortex // *Front. Neural Circuits.* 2007. V. 1. P. 4.
86. *Otsuka T., Kawaguchi Y.* Cortical inhibitory cell types differentially form intralaminar and interlaminar subnetworks with excitatory neurons // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. № 34. P. 10533–10540.
87. *Palmer L., Murayama M., Larkum M.* Inhibitory Regulation of Dendritic Activity in vivo // *Front. Neural Circuits.* 2012. V. 6. P. 26.
88. *Palmer L.M., Schulz J.M., Murphy S.C. et al.* The cellular basis of GABA(B)-mediated interhemispheric inhibition // *Science.* 2012. V. 335. № 6071. P. 989–993.
89. *Panuccio G., Curia G., Colosimo A., Cruccu G., Avoli M.* Epileptiform onization in the cingulate cortex // *Epilepsia.* 2009. V. 50. № 3. P. 521–536.
90. *Petersen C.C., Crochet S.* Synaptic computation and sensory processing in neocortical layer 2/3 // *Neuron.* 2013. V. 78. № 1. P. 28–48.
91. *Pfeffer C.K., Xue M., He M., Huang Z.J., Scanziani M.* Inhibition of inhibition in visual cortex: the logic of connections between molecularly distinct interneurons // *Nat. Neurosci.* 2013. V. 16. № 8. P. 1068–1076.
92. *Price C.J., Cauli B., Kovacs E.R. et al.* Neurogliaform neurons form a novel inhibitory network in the hippocampal CA1 area // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. № 29. P. 6775–6786.
93. *Price C.J., Scott R., Rusakov D.A., Capogna M.* GABA(B) receptor modulation of feedforward inhibition through hippocampal neurogliaform cells // *J. Neurosci.* 2008. V. 28. № 27. P. 6974–6982.
94. *Prince D.A.* Inhibition in “epileptic” neurons // *Exp. Neurol.* 1968 V. 21. № 3. P. 307–321.

95. *Pronneke A., Scheuer B., Wagener R.J., Mock M., Witte M., Staiger J.F.* Characterizing VIP Neurons in the Barrel Cortex of VIPcre/tdTomato Mice Reveals Layer-Specific Differences // *Cereb. Cortex* 2015. V. 25. № 12. P. 4854–4868.
96. *Rocco-Donovan M., Ramos R.L., Giraldo S., Brumberg J.C.* Characteristics of synaptic connections between rodent primary somatosensory and motor cortices // *Somatosens. Mot. Res.* 2011. V. 28. № 3–4. P. 63–72.
97. *Roopun A.K., Simonotto J.D., Pierce M.L. et al.* A non-synaptic mechanism underlying interictal discharges in human epileptic neocortex // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2010. V. 107. № 1. P. 338–343.
98. *Rudy B., Fishell G., Lee S., Hjerling-Leffler J.* Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons // *Dev. Neurobiol.* 2011. V. 71. № 1. P. 45–61.
99. *Sabolek H.R., Swiercz W.B., Lillis K et al.* A candidate mechanism underlying the variance of interictal spike propagation // *J. Neurosci.* 2012. V. 32. № 9. P. 3009–3021.
100. *Saffari R., Teng Z., Zhang M. et al.* NPY+/-, but not PV+/- GABAergic neurons mediated long-range inhibition from infra- to prelimbic cortex // *Transl. Psychiatry.* 2016. V. 6. :e736.
101. *Salkoff D.B., Zagha E., Yüzgeç Ö., McCormick D.A.* Synaptic Mechanisms of Tight Spike Synchrony at Gamma Frequency in Cerebral Cortex // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. № 28. P. 10236–10251.
102. *Schevon C.A., Ng S.K., Cappell J. et al.* Microphysiology of epileptiform activity in human neocortex // *J. Clin. Neurophysiol.* 2008. V. 25. № 6. P. 321–330.
103. *Scheyltjens I., Arckens L.* The current status of somatostatin-interneurons in inhibitory control of brain function and plasticity // *Neural. Plast.* 2016. V. 2016. P. 8723623.
104. *Silberberg G., Markram H.* Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells mediated by Martinotti cells // *Neuron.* 2007. V. 53. P. 735–746.
105. *Simon A., Oláh S., Molnár G., Szabadics J., Tamás G.* Gap-junctional coupling between neurogliaform cells and various interneuron types in the neocortex // *J. Neurosci.* 2005. V. 25. № 27. P. 6278–6285.
106. *Steriade M., Nuñez A., Amzica F.* A novel slow (<1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components // *J. Neurosci.* 1993. V. 13. № 8. P. 3252–3265.
107. *Tamás G., Lorincz A., Simon A., Szabadics J.* Identified sources and targets of slow inhibition in the neocortex // *Science.* 2003. V. 299. № 5614. P. 1902–1905.
108. *Timofeev I., Grenier F., Steriade M.* The role of chloride-dependent inhibition and the activity of fast-spiking neurons during cortical spike-wave electrographic seizures // *Neuroscience.* 2002. V. 114. № 4. P. 1115–1132.
109. *Tremblay R., Lee S., Rudy B.* GABAergic Interneurons in the neocortex: from cellular properties to circuits // *Neuron.* 2016. V. 91. № 2. P. 260–292.
110. *Trevelyan A.J., Sussillo D., Watson B.O., Yuste R.* Modular propagation of epileptiform activity: evidence for an inhibitory veto in neocortex // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. № 48. P. 12447–1255.
111. *Trevelyan A.J., Sussillo D., Yuste R.* Feedforward inhibition contributes to the control of epileptiform propagation speed // *J. Neurosci.* 2007. V. 27. № 13. P. 3383–3387.
112. *Urban-Ciecko J., Barth A.L.* Somatostatin-expressing neurons in cortical networks // *Nat. Rev. Neurosci.* 2016. V. 17. № 7. P. 401–409.
113. *Urban-Ciecko J., Fanselow E.E., Barth A.L.* Neocortical somatostatin neurons reversibly silence excitatory transmission via GABA<sub>B</sub> receptors // *Curr. Biol.* 2015. V. 25. № 6. P. 722–731.
114. *Vanni M.P., Murphy T.H.* Mesoscale transcranial spontaneous activity mapping in GCaMP3 transgenic mice reveals extensive reciprocal connections between areas of somatomotor cortex // *J. Neurosci.* 2014. V. 34. № 48. P. 15931–15946.
115. *Vickers E.D., Clark C., Osypenko D. et al.* Parvalbumin-Interneuron Output Synapses Show Spike-Timing-Dependent Plasticity that Contributes to Auditory Map Remodeling // *Neuron.* 2018. V. 99. № 4. P. 720–735.e6.
116. *Veit J., Hakim R., Jadi M.P., Sejnowski T.J., Adesnik H.* Cortical gamma band synchronization through somatostatin interneurons // *Nat. Neurosci.* 2017. V. 20. № 7. P. 951–959.
117. *Wang L., Maffei A.* Inhibitory plasticity dictates the sign of plasticity at excitatory synapses // *J. Neurosci.* 2014. V. 34. № 4. P. 1083–1093.
118. *Wang Y., Neubauer F.B., Lüscher H.R., Thurley K.* GABA<sub>B</sub> receptor-dependent modulation of network activity in the rat prefrontal cortex in vitro // *Eur. J. Neurosci.* 2010. V. 31. № 9. P. 1582–1594.
119. *Wang Y., Toledo-Rodriguez M., Gupta A. et al.* Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat // *J. Physiol.* 2004. V. 561. (Pt 1): P. 65–90.
120. *Wehr M., Zador A.M.* Balanced inhibition underlies tuning and sharpens spike timing in auditory cortex // *Nature.* 2003. V. 426. P. 442–446.
121. *Witte O.W.* Physiological basis of pathophysiological brain rhythms // *Acta Neurobiol. Exp. (Wars).* 2000. V. 60. № 2. P. 289–297.
122. *Yekhhlef L., Breschi G.L., Lagostena L., Russo G., Taverna S.* Selective activation of parvalbumin- or somatostatin-expressing interneurons triggers epileptic seizure-like activity in mouse medial entorhinal cortex // *J. Neurophysiol.* 2015. V. 113. № 5. P. 1616–1630.
123. *Yavorska I., Wehr M.* Somatostatin-Expressing Inhibitory Interneurons in Cortical Circuits // *Front. Neural Circuits.* 2016. V. 10. P. 76.
124. *Zhu J., Jiang M., Yang M., Hou H., Shu Y.* Membrane Potential-Dependent Modulation of Recurrent Inhibition in Rat Neocortex // *PLoS Biol.* 2011. V. 9. № 3. e1001032.

## GABA B Inhibition Through Feedback is Involved in the Synchronization of Interictal Spikes in the Cortex

V. G. Marchenko<sup>1, \*</sup> and M. I. Zaichenko<sup>1, \*\*</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 117485 Russia*

*\*e-mail: vgmarchenko3@gmail.com*

*\*\*e-mail: mariya-zajchenko@yandex.ru*

**Abstract**—Recent research has significantly expanded the understanding of functions of GABAergic interneurons in cortical neural networks. Interneurons of a certain class are involved in the generation of interictal activity in the cortex, not only in some forms of pathology, but also in conditions where inhibition was primarily through GABA B receptors. Interictal activity is observed as a spikes of enormous amplitude in which a short excitatory phase is followed by a long inhibitory phase, which occurs almost simultaneously in different parts of the cortex. The spike of large amplitude reflects a synchronous activity of excitatory neurons in the local area, and synchronous activity in remote areas is determined by reciprocal connections between pyramidal cells and interneurons, when the activity of large neurons occurs simultaneously during a narrow time interval. In the process of interictal spikes synchronization participate Martinotti cells, as well as parvalbumin-expressing, neurogliaform and expressing Vasoactive intestinal peptide (VIP) interneurons, which, according to experimental data, perform inhibition via the GABA B receptors. At present, several mechanisms are known to synchronize neuronal activity in cortical neural networks: by means of electrical connections, volumetric conduction, synaptic feedback between pyramidal neurons and interneurons, and between interneurons themselves. We assume that the mechanism of synchronization of interictal spike in cortical neural networks operates as follows. Apparently, this mechanism works equally in local neural networks and at a distance. When excitation occurs, it is followed by feedback inhibition, which limits the excitation period, and thus creates a time window of integration, and the same also happens in neighboring cortical neural networks. At the initial stage, the amplitude of interictal spikes is small and not simultaneous in different areas of the cortex. Later on, more and more pyramidal neurons become active during the period of time window action, and thus the amplitude of interictal spike increases, and, as a result, the inhibition increases. Eventually, the increased inhibition due to feedback begins to affect the neighboring neural networks and thus interictal spikes occur almost simultaneously in different parts of the cortex. At the same time, there is a significant lengthening of inhibition after the spike, as inhibition from neighboring neural networks is added to the inhibition in the neural network.

*Keywords:* synchronization, reverse inhibition, GABA, interictal spikes, feedback, cortex

УДК 577.31;577.35;573.22;57.038

## ПРИНЦИПЫ РЕГУЛЯЦИИ СТАЦИОНАРНО ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ СИСТЕМ МЕТАБОЛИЗМА

© 2022 г. Ф. И. Агауллаханов<sup>a, b, c, d, e</sup>, М. В. Мартынов<sup>a</sup>, С. В. Комарова<sup>f</sup>, В. М. Витвицкий<sup>a, \*</sup>

<sup>a</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии, РАН, Москва, 109029 Россия

<sup>b</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

<sup>c</sup>Московский физико-технический институт, Московская обл., г. Долгопрудный, 141701 Россия

<sup>d</sup>University of Pennsylvania (UPENN), Philadelphia, PA 19104, USA

<sup>e</sup>Центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, Москва, 117997 Россия

<sup>f</sup>Faculty of Dentistry, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

\*e-mail: victor\_vitvitsky@yahoo.com

Поступила в редакцию 30.09.2021 г.

После доработки 04.10.2021 г.

Принята к публикации 11.10.2021 г.

В работе, на примере эритроцитов человека, обсуждаются механизмы метаболической регуляции, обеспечивающие гомеостаз в энергетическом метаболизме клетки. Показано, что скорость гликолиза определяется скоростью АТФ-потребляющих процессов. АТФ ингибирует, а АМФ активирует гликолиз, обеспечивая уменьшение скорости гликолиза с ростом [АТФ]. Важную роль в регуляции гликолиза в клетке играет аденилаткиназа, обеспечивающая сильный рост [АМФ] при уменьшении [АТФ]. Участие в регуляции гликолиза АТФ и АМФ, связанных аденилаткиназным равновесием, приводит к тому, что фактически скорость гликолиза зависит не от абсолютных концентраций АТФ и АМФ, а от относительной концентрации АТФ или от энергетического заряда клетки. Резкое снижение скорости гликолиза с ростом энергетического заряда клетки в области его физиологических значений обеспечивает стабилизацию энергетического заряда при активации потребления АТФ. Обсуждаются условия устойчивости стационарных состояний и возникновения бифуркаций в энергетическом метаболизме клетки.

**Ключевые слова:** гомеостаз, энергетический метаболизм, гликолиз, АТФ, АМФ, аденилаткиназа, энергетический заряд, стационарное состояние, устойчивость, бифуркация

DOI: 10.31857/S0301179822010039

### ВВЕДЕНИЕ

В данной работе мы рассматриваем основные принципы и закономерности регуляции биологических систем, функционирующих в клетке стационарно. К таким системам относятся метаболические системы, обеспечивающие жизнеспособность клеток за счет снабжения их энергией, защиты от окислительного стресса, поддержания ионного баланса, целостности клеточной мембраны и т.п. Биологи давно пришли к пониманию того, что стационарно функционирующие системы не просто работают с постоянной скоростью, ни на что не обращая внимания. Такие системы пытаются противостоять любым изменениям, вызываемым внешними воздействиями, поддерживая неизменным свое собственное состояние.

Американский физиолог Уолтер Кэннон (Walter B. Cannon) предложил использовать термин “гомеостаз” для обозначения “координированных физиологических процессов, которые поддерживают наиболее стабильные (устойчивые)

состояния организма” [20]. Впоследствии понятие гомеостаза стали применять и по отношению к отдельным органам и клеткам. Сейчас это универсальное понятие, широко используемое в биологии. Однако наши попытки найти более детальный анализ этого понятия, его “расшифровку”, применение этого понятия для выяснения механизмов работы метаболических систем не привели к успеху. Не много удалось найти в литературе информации, которая позволила бы использовать это расширенное, привлекательное, но очень расплывчатое понятие в качестве четкого инструмента для анализа метаболических систем.

Здесь мы постараемся это сделать. Для начала приведем хорошо всем известный пример гомеостаза. Это поддержание температуры тела у теплокровных животных. У человека температура поддерживается на уровне  $36.6 \pm 0.5^\circ\text{C}$ . При температуре  $37.2^\circ\text{C}$  человек уже явно больной. Учитывая, что по абсолютной шкале температура тела человека составляет около 310 К разброс со-

ставляет всего 0.2%. И это гомеостаз. Наш организм делает все возможное, чтобы поддерживать эту температуру. И метаболически, и поведенчески все делается для того, чтобы температура тела изменялась как можно меньше. Можно привести целый ряд таких примеров, однако, в основном, когда мы смотрим на биологические системы, создается впечатление, что ситуация прямо противоположная. Практически все параметры биологических систем чрезвычайно широко варьируют. Это не случайный шум, или хаос. Это так называемая биологическая (индивидуальная) изменчивость. Если взять какой-либо один биологический вид, например, собаку, то мы обнаружим чрезвычайно разнообразие и по размеру, и по весу, и по цвету, и по другим признакам. Тем не менее, это один вид. Биологическая изменчивость создает большие трудности в нахождении закономерностей, присущих биологическим системам. Почему же некоторые характеристики биологических систем (организма), такие как температура тела, остаются строго постоянными, причем не только у одного представителя вида, но у всех без исключения представителей данного вида, в то время как множество других параметров сильно варьирует? Индивидуальная изменчивость проявляется в биологии на всех уровнях. Концентрация важных метаболитов (скажем, АТФ или глутатиона), скорость метаболических процессов и т.п. может варьировать от индивида к индивиду или от клетки к клетке более, чем в два раза [11, 25, 27, 32, 34].

Большая индивидуальная изменчивость не вызывает удивления у биологов. Предполагается, что высокая внутривидовая изменчивость обеспечивает популяциям стабильность при изменениях окружающей среды. Тем не менее, остается непонятным, как организмам удается сохранить такое индивидуальное разнообразие, сохранив, тем не менее, некоторые единые черты?

Здесь мы немного отошли от понятия гомеостаза, но суть проблемы остается та же самая. Огромное биологическое (индивидуальное) разнообразие на разных уровнях должно быть как-то совмещено с какими-то принципами организации биологических систем, с какими-то характеристиками систем, которые, наоборот, являются неизменными. Или, по крайней мере, природа пытается их сделать неизменными. Можем ли мы извлечь какие-то базовые, неизменные свойства (характеристики) биологических систем из того необъятного моря биологического (индивидуального) разнообразия, которое является неременным атрибутом биологических систем?

### ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

Рассмотрим этот вопрос на примере простейшей клетки человеческого организма — эритро-

цита. Этих клеток в организме очень много. Они составляют около 40% от объема циркулирующей крови. В них отсутствует ядро, митохондрии, рибосомы и другие органеллы. Следовательно, в эритроцитах нет окислительного фосфорилирования, и они не могут синтезировать белки. Тем не менее, эти клетки довольно стабильны. Время их жизни в организме составляет около 120 дней, что намного превышает время жизни многих других клеток [7, 8, 10, 26].

Мы довольно долго занимались изучением регуляции основных метаболических систем эритроцитов и будем проводить наше рассмотрение на основании нашего опыта в этой области.

Основной функцией эритроцита в организме является транспорт кислорода от легких к тканям. Эта функция обеспечивается за счет высокой концентрации кислород-транспортующего белка гемоглобина в этих клетках (300 г/л) [22, 26] и высокой деформируемости эритроцитов — способности проходить по тканевым капиллярам, диаметр которых меньше, чем диаметр эритроцитов [5, 18, 29, 31].

Из-за высокой концентрации гемоглобина и метаболитов внутри эритроцита повышено осмотическое давление, которое клетка компенсирует за счет неравновесного распределения ионов Na и K между внешней средой и цитоплазмой (рис. 1) [6, 33]. Впрочем, это относится ко всем клеткам животных. Всем клеткам приходится бороться с проблемами, вызываемыми осмотическим давлением. Необходимое распределение ионов создается ионным насосом, Na/K-АТФазой, которая закачивает в клетку ионы K и выкачивает ион Na в соотношении 2 : 3 [6], уменьшая тем самым суммарное содержание одновалентных катионов в клетке по сравнению с окружающей средой. В результате осмотическое давление снаружи и внутри клетки выравнивается. Клетки животных не пытаются противостоять осмосу. Они выравнивают осмотическое давление по обе стороны клеточной мембраны, потому что мембрана не жесткая и не может противостоять осмосу. В результате, объем клетки становится динамической переменной. Он довольно легко может изменяться, если изменяется баланс ионов. Таким образом, ионный гомеостаз, это первый гомеостаз, который оказывается важен для клетки.

В свою очередь, насосы для своей работы нуждаются в энергии, то есть в АТФ. В эритроцитах АТФ производится в гликолизе (рис. 1). Это универсальная метаболическая система, существующая во всех клетках. В большинстве клеток гликолиз является частью АТФ-производящего метаболизма наряду с окислительным фосфорилированием, а в эритроците это единственная система производства АТФ. И мы начнем с рассмотрения того, как устроена регуляция произ-



**Рис. 1.** Схематическое изображение эритроцита с принципиальными компонентами этой клетки: гемоглином, трансмембранной транспортной Na/K-АТФазой и системой гликолиза. Сплошные лиловые стрелки показывают активные потоки ионов, а пунктирные стрелки — пассивные потоки ионов через клеточную мембрану. Размер символов для ионов пропорционален их концентрации. Красные стрелки показывают активирующее влияние ионов Na и АТФ на транспортную Na/K-АТФазу. Зелеными стрелками показан круговорот АТФ и АДФ в клетке. Изображение молекулы гемоглобина взято из базы данных RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/structure/1GZX>).

водства АТФ в этой клетке. Схема гликолиза и взаимопревращений аденилатов в клетке показана на рис. 2.

В стационарном состоянии в метаболической системе скорости всех реакций должны быть одинаковыми с учетом стехиометрических коэффициентов, и концентрации всех промежуточных метаболитов постоянны. Если пренебречь потоком через 2,3-дифосфоглицератный шунт ( $u_{12}$  и  $u_{13}$ ), который невелик, и предположить постоянство концентраций глюкозы пирувата и лактата (что вполне соответствует условиям *in vivo*), то для стационарного состояния в гликолизе можно записать следующее уравнение:

$$2u_1 = 2u_2 = 2u_3 = u_5 = u_6 = u_7 = \dots = u_{11}.$$

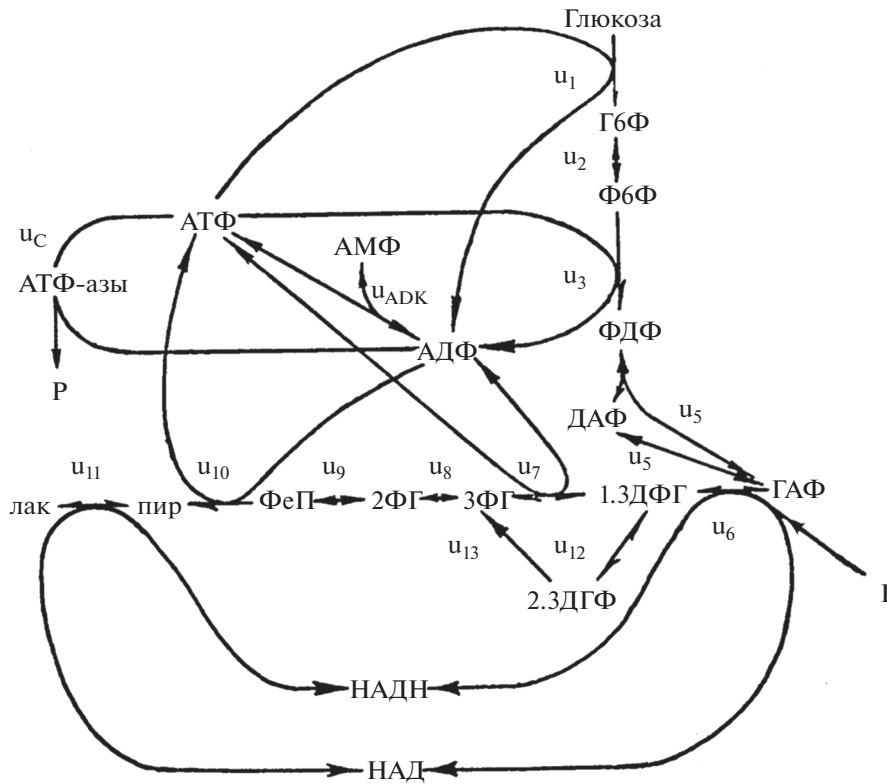
В гликолизе АТФ потребляется в реакциях 1 и 3 и производится в реакциях 7 и 10 (рис. 2). Поэтому

$$\frac{d[\text{АТФ}]}{dt} = (u_7 + u_{10}) - (u_1 + u_3) = 2u_1 > 0.$$

Положительная производная концентрации АТФ по времени означает постоянный рост концентрации АТФ. Из этого уравнения вытекает, что в отсутствие потребления АТФ стационарное функционирование гликолиза в принципе невозможно. Если скорость потребления АТФ  $-u_c = 0$ , то и стационарные скорости всех других реакций могут быть только нулевыми. Действительно, АТФ в гликолизе производится из АДФ. Но при отсутствии потребления АТФ концентрация

АДФ и скорость реакций в так называемой “нижней” части гликолиза быстро снизятся. При этом скорости гексокиназной и фосфофруктокиназной реакций какое-то время будут протекать нормально, что приведет к накоплению фосфорилированных промежуточных метаболитов гликолиза и, в конце концов, к полному истощению ортофосфата, АТФ и к полной остановке гликолиза.

Итак, гликолиз может нормально функционировать только в том случае, если есть потребители АТФ, которые не являются частью гликолиза. Динамическое исследование гликолиза в принципе невозможно без дополнения его потребителями АТФ. Такими потребителями безусловно являются ионные насосы. Но кроме них АТФ может потребляться в других реакциях и процессах, которые очень разнообразны и не одинаковы в разных клетках. Таким образом, мы вынуждены перейти от четко определенной системы — гликолиза к уже не четко определенной системе, включающей гликолиз и потребителей АТФ, которые могут быть разными и не всегда полностью известными. Это одна из проблем, с которой сталкиваешься при исследовании закономерностей регуляции биологических систем — расплывчатость понятия системы. В данном случае мы расширили понятие системы гликолиза, введя неизвестное количество потребителей АТФ. Кроме того, если нам пришлось расширить систему один раз, где гарантия, что не придется расширять систему еще раз? Фактически, мы изучаем систему, которая нечетко определена.



**Рис. 2.** Схема гликолиза с учетом взаимопревращений аденилатов (АТФ, АДФ и АМФ). Г6Ф, Ф6Ф, ФДФ, ДАФ, ГАФ, 1,3ДФГ, 2,3ДФГ, 3ФГ, 2ФГ, ФЕП, пир и лак обозначают глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат, фруктозодифосфат, диоксиацетонфосфат, глицеральдегид-3-фосфат, 1,3-дифосфоглицерат, 2,3-дифосфоглицерат, 3-фосфоглицерат, 2-фосфоглицерат, фосфоенолпируват, пируват и лактат соответственно. Р обозначает неорганический фосфат.  $u_1, u_2, u_3, u_5, u_6, u_7, u_8, u_9, u_{10}, u_{11}$  обозначают скорости реакций гексокиназной, фосфогексоизомеразной, фосфофруктокиназной, альдолазной, триозофосфатизомеразной, глицеральдегидфосфатдегидрогеназной, фосфоглицераткиназной, фосфоглицератмутазной, енолазной, пируваткиназной и лактатдегидрогеназной реакций соответственно.  $u_{12}$  и  $u_{13}$  обозначают скорости реакций 2,3-дифосфоглицератного шунта: дифосфоглицератмутазной и дифосфоглицератфосфатазной соответственно. Триозофосфатизомеразная реакция считается равновесной и скорость ее равна скорости альдолазной реакции ( $u_5$ ).  $u_c$  обозначает суммарную скорость потребления АТФ.  $u_{ADK}$  обозначает скорость аденилаткиназной реакции.

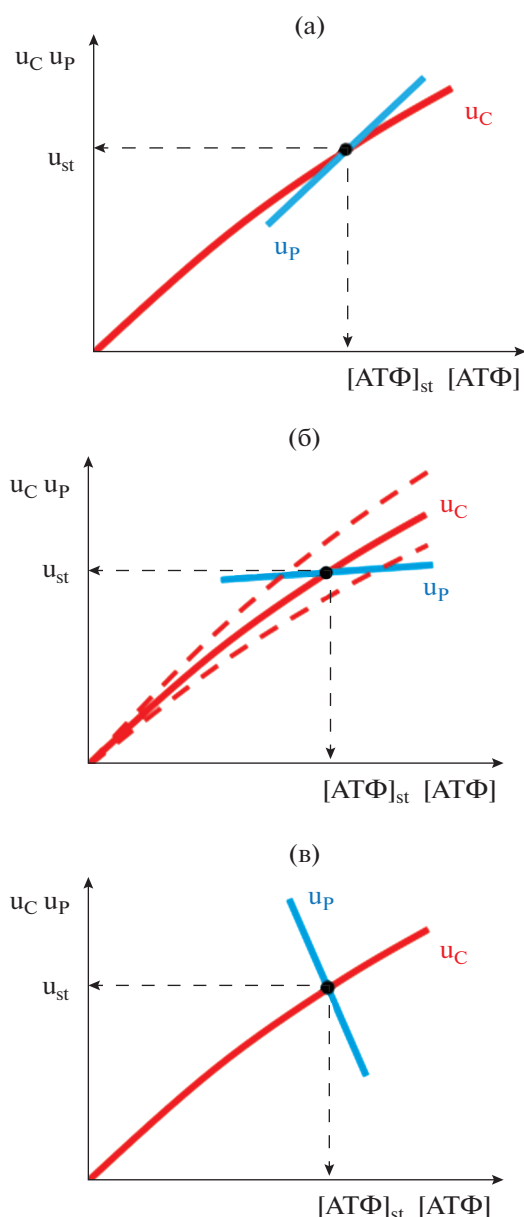
### РЕГУЛЯЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА

Предположим, что мы знаем всех потребителей АТФ и обозначим суммарную скорость потребления АТФ через  $u_c$ . А через  $u_p$  обозначим скорость, с которой АТФ производится в клетке. В стационарном состоянии скорость производства АТФ должна быть равна скорости потребления и это определяет скорости во всей системе. Если мы представим на графике зависимость скорости производства АТФ и скорости потребления АТФ от концентрации АТФ, то точка пересечения этих зависимостей (в которой скорости производства и потребления АТФ равны) и определит нам стационарное состояние метаболизма и стационарную скорость как производства, так и потребления АТФ (рис. 3).

Здесь надо отметить, что скорость потребления АТФ в клетке связана обычно с выполнением каких-либо функций и задается в основном

внешними условиями, такими как концентрация ионов, проницаемость мембраны, необходимость перемещения, необходимость какого-либо синтеза и т.п. При этом процесс производства АТФ не должен лимитировать его потребление. Иначе клетка просто не сможет выполнять необходимые функции. Скажем, при недостатке АТФ ионные насосы не смогут обеспечить скорость переноса ионов, необходимую для того, чтобы скомпенсировать пассивную утечку ионов через клеточную мембрану и сохранить осмотический баланс. Таким образом, именно потребление АТФ является в клетке определяющим фактором для стационарного состояния энергетического метаболизма.

Как же должна быть устроена зависимость скорости производства АТФ от [АТФ] для того, чтобы, с одной стороны, обеспечивать изменения скорости производства АТФ в соответствии с изменениями в скорости его потребления, и, с дру-



**Рис. 3.** Пересечение кривых зависимостей скорости производства АТФ (голубая линия) и скорости потребления АТФ (красная линия) от концентрации АТФ определяет стационарное состояние энергетического метаболизма. (а) – Неустойчивое стационарное состояние. (б) – Устойчивое стационарное состояние с отсутствием стабилизации уровня АТФ. Пунктирные линии показывают зависимость скорости потребления АТФ от [АТФ] при активации и ингибировании АТФ-потребляющих процессов. (в) – Устойчивое стационарное состояние со стабилизацией уровня АТФ.  $u_p$  и  $u_c$  обозначают скорости производства и потребления АТФ.  $u_{st}$  и  $[АТФ]_{ст}$  обозначают стационарные значения скорости и концентрации АТФ.

гой стороны, обеспечивать гомеостаз [АТФ], то есть обеспечивать стабилизацию уровня АТФ в клетке при изменениях скорости потребления АТФ?

Сразу отметим, что в ситуации, изображенной на рис. 3а, стационарное состояние, соответствующее пересечению двух кривых, является неустойчивым. При увеличении концентрации АТФ по сравнению со стационарным значением скорость производства АТФ начинает превышать скорость потребления, что приведет к росту уровня АТФ в клетке. При уменьшении концентрации АТФ скорость потребления АТФ начинает превышать скорость производства, что приведет к снижению уровня АТФ. В результате, любое случайное отклонение концентрации АТФ от стационарного значения приведет к потере стационарного состояния.

Для устойчивости необходимо, чтобы в точке пересечения наклон зависимости скорости производства АТФ от [АТФ] был меньше, чем наклон зависимости скорости потребления АТФ от [АТФ], как это изображено на рис. 3б. В этом случае при случайных отклонениях концентрации АТФ от стационарного значения система будет возвращаться в это стационарное значение. Однако, в ситуации, изображенной на рис. 3б небольшая активация или ингибирование АТФ-потребляющих процессов (пунктирные линии) вызывают значительные изменения уровня АТФ в клетке. Это плохо согласуется с идеями гомеостаза. Поэтому посмотрим, чем определяется стабильность уровня АТФ в клетке при изменении каких-то параметров метаболизма. Для этого удобно воспользоваться формализмом Теории Метаболического Контроля [21, 23, 24].

В окрестности стационарного состояния зависимости скоростей реакций от параметров системы можно считать линейными:

$$u_c = a[АТФ]; \quad u_p = b_1 + b[АТФ].$$

Тогда стационарная концентрация АТФ будет равна:

$$[АТФ]_{st} = \frac{b_1}{a - b}.$$

Для того, чтобы оценить степень стабилизации АТФ в клетке нужно вычислить контрольный коэффициент для влияния активности АТФ-потребляющих процессов на стационарный уровень АТФ ( $C_a^{[АТФ]_{st}}$ ). Из Теории Метаболического Контроля следует, что этот коэффициент равен:

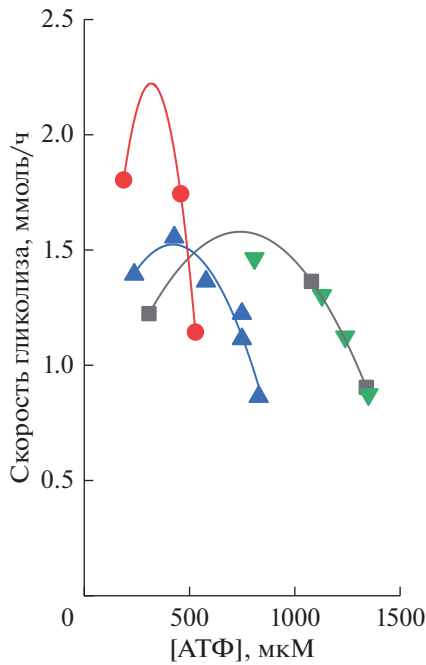
$$C_a^{[АТФ]_{st}} = \frac{a}{[АТФ]_{st}} \frac{d[АТФ]_{st}}{da}.$$

Теперь введем коэффициент стабилизации:

$$Q = -\frac{1}{C_a^{[АТФ]_{st}}} = 1 - \frac{b}{a}.$$

Чем меньше изменяется стационарная концентрация АТФ при изменении активности по-





**Рис. 4.** Зависимость скорости гликолиза (скорости потребления глюкозы) от [АТФ], полученная экспериментально в эритроцитах четырех разных доноров. Одинаковыми символами показаны данные, полученные на эритроцитах одного донора. Графики построены по данным из работы [14].

ребления АТФ, тем меньше соответствующий контрольный коэффициент и тем больше коэффициент стабилизации [АТФ]. Как видно, коэффициент стабилизации представляет собой простую функцию, которая определяется двумя параметрами. Параметр  $a$ , это активность АТФ-потребляющих процессов (наклон зависимости скорости потребления АТФ от [АТФ]), а параметр  $b$ , это наклон зависимости скорости производства АТФ от концентрации АТФ в области физиологических значений [АТФ]. Из последнего уравнения следует, что значение  $Q$  стремится к бесконечности если значение  $b$  стремится к минус-бесконечности. То есть с увеличением концентрации АТФ скорость производства АТФ должна уменьшаться, и чем сильнее она уменьшается, тем лучше стабилизируется [АТФ]. Такое устройство энергетического метаболизма обеспечивает изменение скорости производства АТФ в клетке в соответствии с изменениями скорости потребления АТФ и позволяет поддерживать гомеостаз (стабилизацию) в отношении внутриклеточной концентрации АТФ (рис. 3в). Физиологическое значение такого гомеостаза состоит в том, что при наличии в клетке большого количества АТФ-зависимых процессов, стабилизация уровня АТФ позволяет активировать или подавлять отдельные АТФ-зависимые процессы, не влияя на остальные.

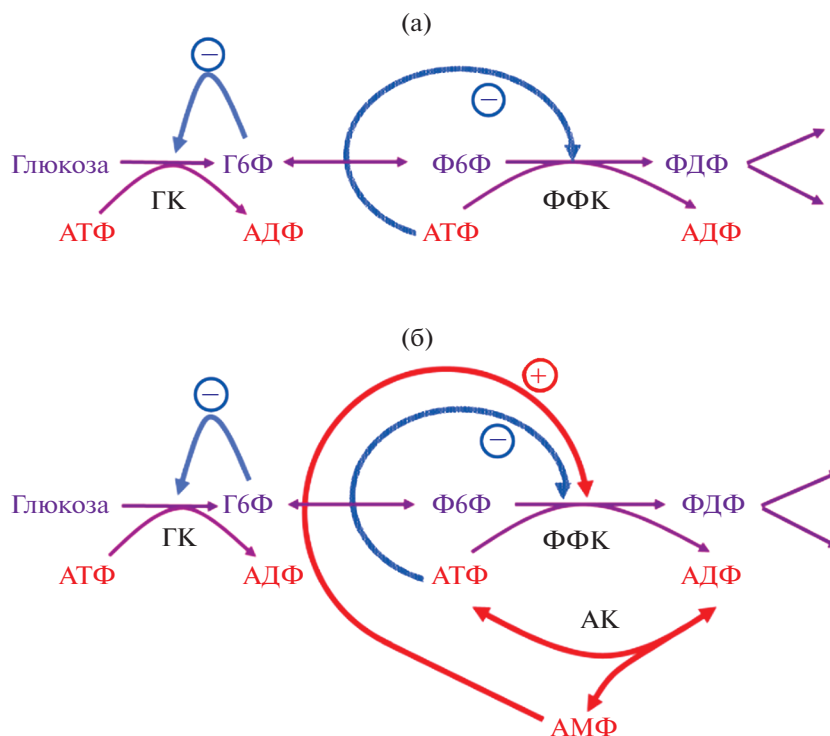
Таким образом, простые динамические соотношения приводят нас к простым фундаментальным принципам устройства биологических систем. В данном случае речь идет о системе производства и потребления АТФ, однако те же рассуждения можно применить к другим системам, например, к антиокислительному метаболизму глутатиона, к синтезу каких-то других важных метаболитов и т.п. Во всех случаях, когда требуется стабилизация каких-то метаболитов, картинка будет та же самая. Везде должен быть участок в системе производства этого вещества, на котором скорость производства будет уменьшаться с увеличением концентрации.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЭРИТРОЦИТАХ

Получив довольно парадоксальное предсказание о том, что скорость производства АТФ должна сильно уменьшаться с ростом концентрации АТФ, мы решили посмотреть, как выглядит реальная (экспериментальная) зависимость скорости гликолиза от концентрации АТФ в эритроцитах человека и других млекопитающих [1, 2, 14].

На рис. 4 приведена зависимость скорости гликолиза от [АТФ], полученная экспериментально в эритроцитах четырех разных доноров. Как видно из рисунка, в каждом случае, в соответствии с приведенными выше рассуждениями, скорость производства АТФ (скорость гликолиза) уменьшается с ростом [АТФ]. Но при этом у разных доноров падающий участок на кривых наблюдается при разных концентрациях АТФ. Получается, что гомеостаз (стабилизация [АТФ]) есть, но он индивидуальный и у каждого человека поддерживается своя собственная концентрация АТФ. Это привело нас к мысли, что, возможно, абсолютная концентрация АТФ не является той переменной, которая стабилизируется/гомеостатизируется в клетке.

Предположение о том, какая энергетическая переменная (наряду с АТФ) может стабилизироваться в клетке, можно сделать на основании изучения регуляции ферментов гликолиза. Скорость гликолиза определяется двумя ферментами: гексокиназой (ГК) и фосфофруктокиназой (ФФК) (рис. 5). При этом АТФ ингибирует ФФК и это ингибирование передается на ГК за счет ингибирования ГК глюкозо-6-фосфатом (Г6Ф) (рис. 5а) [3, 9]. Таким образом, увеличение концентрации АТФ будет приводить к уменьшению скорости гликолиза в соответствии с вышеизложенными представлениями. Однако попытки количественно смоделировать зависимость скорости гликолиза в эритроцитах от [АТФ] используя кинетические параметры ферментов не позволяют получить необходимую крутизну падающего участка



**Рис. 5.** Регуляция первых ферментов гликолиза, гексокиназы (ГК) и фосфофруктокиназы (ФФК), определяющих скорость всего гликолитического потока в эритроцитах человека. Фермент фосфогексоизомеразы, находящийся между ГК и ФФК, катализирует обратимую реакцию, находящуюся в равновесии и не указан на рисунке. (а) – Регуляция скорости гликолиза за счет отрицательных обратных связей (показаны синими стрелками). (б) – Дополнительная регуляция скорости гликолиза за счет активирующего эффекта АМФ (красные стрелки). Г6Ф, Ф6Ф и ФДФ обозначают глюкозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат и фруктозо-1,6-дифосфат соответственно. АК обозначает фермент аденилаткиназу.

на зависимости скорости гликолиза от [АТФ] только за счет ингибирования ФФК концентрацией АТФ при разумных параметрах ингибирования.

### РОЛЬ АДЕНИЛАТКИНАЗНОЙ РЕАКЦИИ В РЕГУЛЯЦИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА. АМФ – СПЕЦИАЛЬНЫЙ УПРАВЛЯЮЩИЙ МЕТАБОЛИТ

Фермент ФФК имеет множество активаторов и ингибиторов. Одним из самых сильных активаторов является аденозинмонофосфат (АМФ) (рис. 5б) [3, 9, 19]. АМФ является промежуточным метаболитом в синтезе АТФ *de novo* и непосредственно не участвует в гликолитических реакциях. Однако во всех клетках есть фермент – аденилаткиназа, который катализирует взаимопревращения между АТФ, АДФ и АМФ в обратимой аденилаткиназной реакции:



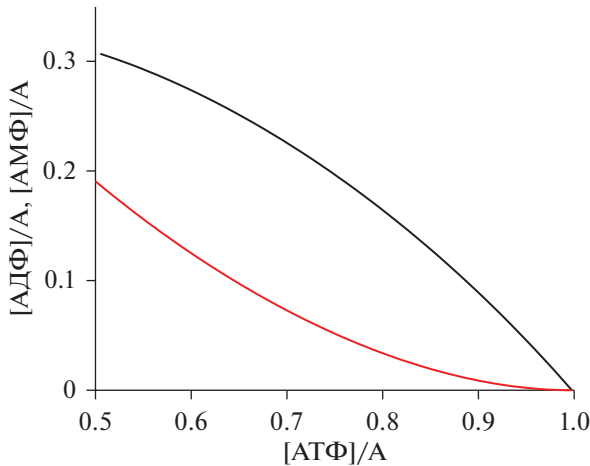
Активность аденилаткиназы в клетках высока и обеспечивает поддержание равновесного соотношения между концентрациями АТФ, АДФ и АМФ [17, 30]. В результате, если в клетке возрастает АТФ, то одновременно снижается АМФ. На-

личие такой сильной связи подсказывает, что нам необходимо еще одно расширение нашей энергетической системы за счет включения концентрации АМФ и аденилаткиназной реакции. При наличии равновесной аденилаткиназной реакции оба эффектора АТФ и АМФ будут действовать согласованно, поскольку их концентрации связаны между собой. При этом АМФ может вызывать гораздо более сильный эффект, поскольку в области физиологических концентраций при изменении уровня АТФ в клетке на 10–20% уровень АМФ изменяется в несколько раз (рис. 6). Сильные изменения концентрации АМФ при относительно небольших вариациях уровня АТФ вытекают из уравнений для аденилаткиназного равновесия и постоянства пула аденилатов (суммы концентраций АТФ, АДФ и АМФ):

$$\begin{aligned} [\text{АТФ}] * [\text{АМФ}] &= [\text{АДФ}]^2, \\ [\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АМФ}] &= A. \end{aligned}$$

В большинстве клеток в нормальных условиях концентрации аденилатов находятся в следующем соотношении [11, 25, 27, 34]:

$$[\text{АТФ}] : [\text{АДФ}] : [\text{АМФ}] = 100 : 10 : 1.$$



**Рис. 6.** Относительные изменения уровней АДФ (черная кривая) и АМФ (красная кривая) при уменьшении относительной концентрации АТФ в клетке. Расчеты сделаны при условии постоянства суммы концентраций аденилатов ( $[АТФ] + [АДФ] + [АМФ] = A$ ) и наличия аденилаткиназного равновесия ( $[АТФ] * [АМФ] = [АДФ]^2$ ).

И для концентрации АМФ получаем приближенную зависимость от [АТФ]:

$$\frac{[АМФ]}{A} \sim \left(1 - \frac{[АТФ]}{A}\right)^2.$$

Концентрация АМФ оказывается квадратичной функцией от концентрации АТФ. То есть небольшие изменения концентрации АТФ приводят к сильным изменениям концентрации АМФ. Таким образом, из приведенных выше уравнений вытекает, что при физиологических условиях АМФ является очень чувствительным индикатором, который резко реагирует на небольшие изменения концентрации АТФ и является одним из важнейших регуляторов энергетического метаболизма, в данном случае в эритроцитах.

Таким образом, раз небольшое увеличение концентрации АТФ будет вызывать сильное уменьшение концентрации АМФ, то это будет приводить к сильному уменьшению скорости ФФК реакции. В результате АМФ и АТФ совместно меняют скорость ФФК реакции, усиливая эффекты друг друга.

### ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ЗАРЯД КЛЕТКИ

Из вышеприведенного рассмотрения следует, что гликолиз управляется двумя связанными между собой веществами (АТФ и АМФ). Исходя из этого вполне разумно предположить, что регулятором гликолиза (и стабилизируемой переменной) является какая-то относительная величина, например, относительная концентрация АТФ:

$$\Psi = \frac{[АТФ]}{[АТФ] + [АДФ] + [АМФ]}$$

отклонение которой от физиологического значения и будет измерять АМФ. Или таким регулятором является более сложная функция — энергетический заряд:

$$\Phi = \frac{[АТФ] + \frac{1}{2}[АДФ]}{[АТФ] + [АДФ] + [АМФ]}$$

предложенный Дэниелом Аткинсоном (Daniel Atkinson) еще в 1967 г. из совсем других соображений для характеристики энергетического статуса клетки [15, 16].

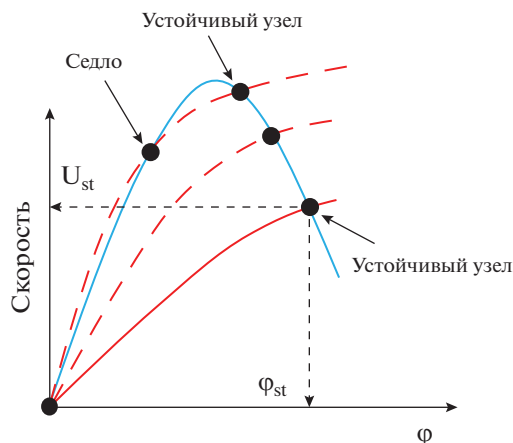
Первая функция ( $\Psi$ ) более простая и более понятная. Она говорит, что эта система работает на относительных величинах. Она стабилизирует не абсолютную, а относительную концентрацию АТФ, потому что АМФ измеряет отклонения АТФ от полного пула аденилатов, а не абсолютное значение [АТФ]. Надо отметить, что при физиологических условиях ( $[АТФ] : [АДФ] : [АМФ] = 100 : 10 : 1$ ) обе формулы дают практически одно и то же значение.

Дальше мы будем пользоваться формулой Аткинсона просто в знак уважения к этому великому человеку, который прозрел это много десятилетий тому назад.

Если мы теперь нарисуем, как выглядит функция производства АТФ от энергетического заряда, то оказывается, что, введя регуляцию АМФ мы можем получить кривую с достаточно крутым падающим участком, на котором увеличение энергетического заряда приводит к резкому уменьшению скорости гликолиза (рис. 7). А восходящий участок на этой кривой, это “дань” биохимии. Поскольку гликолиз начинается с потребления АТФ в двух первых реакциях, неизбежно следует, что при нулевой концентрации АТФ или при нулевом энергетическом заряде скорость гликолиза тоже будет нулевой. Отсюда получается кривая с максимумом, на которой рабочим участком является только падающий участок.

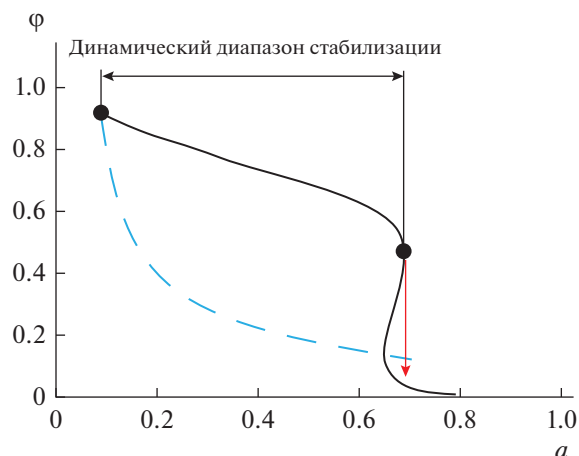
### УСТОЙЧИВОСТЬ СТАЦИОНАРНОГО СОСТОЯНИЯ И СТАБИЛИЗАЦИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ЗАРЯДА КЛЕТКИ

При нормальных физиологических условиях, согласно рис. 7, зависимости скорости производства и потребления АТФ от [АТФ] пересекаются в двух точках. При физиологической концентрации АТФ и при нулевой. Стационарное состояние системы при нулевой концентрации АТФ неустойчиво. Любое флуктуационное увеличение концентрации АТФ приведет к дальнейшему росту концентрации АТФ до тех пор, пока в системе



**Рис. 7.** Зависимость скорости гликолиза от энергетического заряда ( $\phi$ ) (голубая кривая), обеспечивающая стабилизацию энергетического заряда при активации потребления АТФ. Зависимость скорости потребления АТФ от энергетического заряда (фактически от концентрации АТФ) в норме (сплошная красная кривая) и при различной степени активации потребления АТФ (пунктирные красные кривые).

не будет достигнуто физиологическое стационарное состояние. Если мы посмотрим, что будет происходить с этой системой при увеличении нагрузки (при активации потребления АТФ), то мы увидим, что энергетический заряд будет снижаться, но это снижение не очень большое. Это снижение будет продолжаться не очень долго. Но еще до этого может сложиться ситуация, когда в системе появится три стационарных состояния (рис. 7). Такая ситуация возможна при гиперболической зависимости скорости потребления АТФ от [АТФ] (рис. 7). В этом случае появление третьего стационарного состояния происходит с одновременным изменением устойчивости нулевого стационарного состояния. В энергетической системе появляется два устойчивых стационарных состояния — физиологическое и нулевое, с неустойчивым состоянием между ними. Возможность сосуществования двух устойчивых стационарных состояний (бистабильность) является любопытной особенностью энергетической системы клетки. В каких-то ситуациях, например, патологических, когда такое состояние возможно, временный всплеск потребления АТФ может привести к переходу системы в состояние с нулевой концентрацией АТФ и к гибели клетки. В то же время, при отсутствии сильных возмущений, клетка могла бы оставаться в физиологически нормальном состоянии сколь угодно долго. Дальнейшая активация потребления АТФ приведет к тому, что скорость потребления АТФ будет превышать скорость производства АТФ при всех значениях энергетического заряда. В этой ситуации,

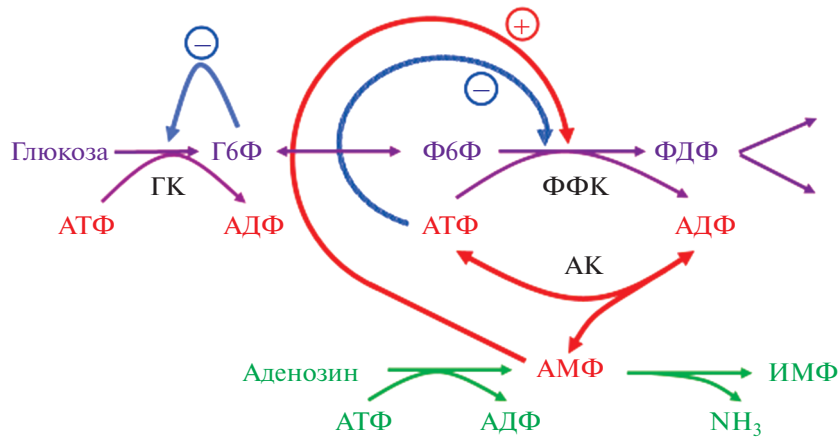


**Рис. 8.** Гомеостаз энергетического заряда в человеческих эритроцитах при изменении активности АТФ-потребляющих процессов (черная кривая). Пунктиром показана зависимость энергетического заряда клетки от активности АТФ-потребляющих процессов при постоянной скорости производства АТФ и линейной зависимости скорости потребления АТФ от [АТФ]. Красная стрелка показывает скачкообразное падение энергетического заряда в точке бифуркации.

естественно, в системе останется только одно, нулевое стационарное состояние.

Зависимость стационарного значения энергетического заряда от активности АТФ-потребляющих процессов в нашей системе приведена на рис. 8. Как видно из рисунка, в “рабочем диапазоне” изменений активности АТФ-потребляющих процессов семикратное увеличение этой активности приводит к уменьшению энергетического заряда на 50%. Если бы не было никакой регуляции, и энергетическая система производила бы АТФ с постоянной скоростью, не было бы никаких обратных связей, никакого АМФ, то энергетический заряд падал бы примерно по гиперболе, как показано на рис. 8 пунктирной линией.

И так получается, что, во-первых, в энергетике эритроцита есть гомеостаз уже на уровне одной метаболической системы — системы производства и потребления энергии. Во-вторых, этот гомеостаз может быть численно охарактеризован через коэффициент стабилизации (наклон участка, на котором энергетический заряд меняется мало), и через диапазон изменения активности АТФ-потребляющих процессов в котором осуществляется стабилизация (гомеостазирование) энергетического заряда. Невозможно гомеостазировать систему при бесконечно больших изменениях. В системе, естественно, существует ограничение активности потребления АТФ сверху и при превышении этого порога энергетический заряд (и концентрация АТФ) скачкообразно (катастрофически) падает. То есть происходит би-



**Рис. 9.** Реакции синтеза и разрушения АМФ в эритроцитах (показаны зеленым цветом) могут влиять на суммарный уровень аденилатов в клетке ([АТФ] + [АДФ] + [АМФ]), что может обеспечивать дополнительную регуляцию метаболизма. ИМФ – инозинмонофосфат.

фуркация. Система держится изо всех сил в стационарном состоянии, а потом не выдерживает, ломается, и “падает” практически в ноль. Любопытно, что на левой границе диапазона стабилизации тоже есть особая точка, в которой система теряет устойчивость (рис. 8). Что это такое? Система потребляет очень мало энергии, а метаболизм не может произвести столько энергии? Нет, может. А тем не менее система перестает работать. Это ситуация перепроизводства, когда система не может уменьшить скорость своей работы до нуля. Все эти регуляторы не способны полностью подавить работу ферментов. Отсюда возникает такая характерная картина, которая является довольно универсальной: есть диапазон стабилизации, с обеих сторон ограниченный катастрофическими изменениями состояния системы, и часто гибелью клетки. И это одна из интереснейших вещей, которую мы в свое время осознали и которая, по-видимому, является общим свойством всех (хотя мы все не проверяли, но полагаем, что всех) стационарно функционирующих метаболических систем клетки. Все метаболические системы, которые мы исследовали и которые обеспечивают гомеостаз каких-то параметров, они все ведут себя аналогичным образом. Можно считать, что это и есть некоторые принципиально общие правила, или принципы организации обеспечивающих гомеостаз систем. По крайней мере, на уровне метаболических систем.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Что мы увидели из нашего рассмотрения? Нам пришлось сделать несколько “расширений” исследуемой системы.

Мы начали с того, что энергию в эритроците, в простейшей клетке, производит гликолиз. По-

скольку эта метаболическая система оказалась принципиально нестационарной, мы вынуждены были немедленно расширить систему, введя потребителей АТФ. Этого оказалось сильно недостаточно, и нам пришлось добавить АМФ и аденилаткиназу, которые обеспечили специальную регуляцию, управляющую потоком в гликолизе. После этого регуляция производства АТФ в модели стала гораздо более эффективной. При этом появилась некоторая свободная переменная. Оказалось, что система может работать как стабилизатор только по отношению к некоторой новой функции, которая не является биохимической функцией. Эта функция – энергетический заряд – комбинация концентраций разных аденилатов. И стабилизируется только эта комбинация, а вовсе не абсолютная концентрация АТФ.

Тем не менее концентрация АТФ является “привлекательной” биохимической характеристикой. Она важна для работы ионных насосов, потому что они-то используют именно АТФ и их скорость зависит от абсолютной концентрации АТФ. Оказывается, такой механизм, который природа создала для стабилизации энергетического заряда дает дополнительную возможность для регуляции [4, 12, 13, 28]. Клетка может менять абсолютную концентрацию АТФ, используя синтез и разрушение АМФ в реакциях совсем другой метаболической системы, не относящейся к гликолизу (к энергетическому метаболизму), и за счет этого управлять абсолютной концентрацией АТФ в клетке для каких-то своих нужд, сохраняя при этом постоянный энергетический заряд (рис. 9). Таким образом, мы получили дополнительную степень свободы.

В ходе нашей работы мы постепенно начали понимать, что биологическая изменчивость или биоразнообразие, с которым мы сталкиваемся,

закрывает от нас реальную картину устройства биологической системы. А биологические системы устроены, по-видимому, так, что в них есть переменные, которые определяют сущность функционирования (регуляции) данной системы, такие как энергетический заряд или температура тела. Этих переменных мало. Мало по необходимости, потому что биологические системы работают как надежно устроенные машины, а надежно устроенные машины, как мы полагаем, имеют мало степеней свободы.

Короче говоря, за этим гигантским биоразнообразием с неизбежностью стоит на много порядков меньшее (небольшое) разнообразие существенных переменных системы. Там нет никакого биологического разнообразия. В области существенных переменных все индивидуумы абсолютно одинаковы. Энергетический заряд фиксирован с точностью до процентов, и метаболические системы устроены так, что они сопротивляются изменениям из всех сил, пока не ломаются.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда № 21-45-00012 (Ф.И. Атауллаханов).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В работе не проводились исследования с использованием людей или животных в качестве объектов исследований.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атауллаханов А.И., Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский А.М., Пичугин А.В. Исследование регуляторной характеристики гликолиза в эритроцитах барана // Биохимия. 1982. Т. 47. Вып. 8. С. 1293–1298.
2. Атауллаханов А.И., Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский А.М., Пичугин А.В. 2,3-Дифосфолицератный шунт и стабилизация уровня АТФ в эритроцитах млекопитающих // Биохимия. 1985. Т. 50. Вып. 6. С. 1005–1011.
3. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Жаботинский А.М., Холоденко Б.И., Эрлих Л.И. Количественная модель гликолиза эритроцита человека. I. Зависимость стационарной скорости гликолиза от концентрации АТФ // Биофизика. 1977. Т. 22. Вып. 3. С. 483–488.
4. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Комарова С.В. Возможная роль метаболизма адениновых нуклеотидов в регуляции объема эритроцитов человека // Биологические мембраны. 1996. Т. 13. Вып. 2. С. 196–207.
5. Атауллаханов Ф.И., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Тужилова Е.Г. Анализ геометрических параметров и механических свойств эритроцитов методом фильтрации через мембранные ядерные фильтры. I. Математическая модель // Биофизика. 1994. Т. 39. Вып. 4. С. 672–680.
6. Атауллаханов Ф.И., Корунова Н.О., Спиридонов И.С., Пивоваров И.О., Калягина Н.В., Мартынов М.В. Как регулируется объем эритроцита, или что могут и чего не могут математические модели в биологии // Биологические мембраны. 2009. Т. 26. Вып. 3. С. 163–179.
7. Бабский Е.Б., Зубков А.А., Косицкий Г.И., Ходоров Б.И. Физиология человека. Медицина, Москва. 1972. 656 с.
8. Кассирский И.А., Алексеев Г.А. Клиническая гематология (4-е изд.). Медицина, Москва. 1970. 799 с.
9. Ньюсхолм Э., Старк К. Регуляция метаболизма // Мир. Москва. 1977. 407 с.
10. Рапопорт С.М. Медицинская биохимия. Медицина, Москва. 1966. 892 с.
11. Angerås U., Hall-Angerås M., Wagner K.R., James H., Hasselgren P.O., Fischer J.E. Tissue metabolite levels in different types of skeletal muscle during sepsis // Metabolism: clinical and experimental. 1991. V. 40. № 11. P. 1147–51. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(91\)90208-e](https://doi.org/10.1016/0026-0495(91)90208-e)
12. Ataulakhanov F.I., Komarova S.V., Martynov M.V., Vitvitsky V.M. A possible role of adenylate metabolism in human erythrocytes. 2. Adenylate metabolism is able to improve the erythrocyte volume stabilization // J. theoretical biology. 1996. V. 183. № 3. P. 307–16. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1996.0222>
13. Ataulakhanov F.I., Komarova S.V., Vitvitsky V.M. A possible role of adenylate metabolism in human erythrocytes: simple mathematical model // J. theoretical biology. 1996. V. 179. № 1. P. 75–86. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1996.0050>
14. Ataulakhanov F.I., Vitvitsky V.M., Zhabotinsky A.M., Pichugin A.V., Platonova O.V., Kholodenko B.N., Ehrlich L.I. The Regulation of Glycolysis in Human Erythrocytes // European J. Biochemistry. 1981. V. 115. № 2. P. 359–365. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1981.tb05246.x>
15. Atkinson D.E., Walton G.M. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. Rat liver citrate cleavage enzyme // The J. biological chemistry. 1967. V. 242. № 13. P. 3239–41.
16. Atkinson D.E. Cellular Energy Metabolism and its Regulation. Academic Press, New York. 1977. 293 p.
17. Beutler E., Carson D., Dannawi H., Forman L., Kuhl W., West C., Westwood B. Metabolic compensation for profound erythrocyte adenylate kinase deficiency. A hereditary enzyme defect without hemolytic anemia // The J. clinical investigation. 1983. V. 72. № 2. P. 648–55. <https://doi.org/10.1172/JCI111014>
18. Branemark P.I. Intravascular anatomy of blood cells in man // Karger, Basel. 1971. 90 p.
19. Brüser A., Kirchberger J., Kloos M., Sträter N., Schöneberg T. Functional linkage of adenine nucleotide binding sites in mammalian muscle 6-phosphofructokinase // The J. biological chemistry. 2012. V. 287. № 21. P. 17546–17553. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.347153>

20. Cannon W.B. The Wisdom of the Body. W. W. Norton., New York. 1932. 294 p.
21. Cornish-Bowden A. Fundamentals of Enzyme Kinetics (4 ed.). Wiley-Blackwell. 2012. 510 p.
22. Dominguez de Villota E.D., Ruiz Carmona M.T., Rubio J.J., De Andres S. Equality of the in vivo and in vitro oxygen-binding capacity of haemoglobin in patients with severe respiratory disease // British J. Anaesthesia. 1981. V. 53. № 12. P. 1325–8. <https://doi.org/10.1093/bja/53.12.1325>
23. Fell D.A. Metabolic control analysis: a survey of its theoretical and experimental development // The Biochemical journal. 1992. V. 286. № 2. P. 313–30. <https://doi.org/10.1042/bj2860313>
24. Heinrich R., Schuster S. The Regulation of Cellular Systems. Chapman and Hall, New York. 1996. 372 p.
25. Kaminsky Y.G., Kosenko E.A., Kondrashova M.N. Alteration of adenine nucleotide pool in old rat liver and its normalization with ammonium succinate // FEBS letters. 1983. V. 159. № 1–2. P. 259–61. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(83\)80459-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(83)80459-1)
26. Lang F., Foller M. (Eds.) Erythrocytes: Physiology and pathophysiology. Imperial College Press, London. 2012. 452 p.
27. Mansell M.A., Allsop J., North M.E., Simmonds R.J., Harkness R.A., Watts R.W. Effect of renal failure on erythrocyte purine nucleotide, nucleoside and base concentrations and some related enzyme activities // Clinical science. 1981. V. 61. № 6. P. 757–64. <https://doi.org/10.1042/cs0610757>
28. Martinov M.V., Plotnikov A.G., Vitvitsky V.M., Ataulakhanov F.I. Deficiencies of glycolytic enzymes as a possible cause of hemolytic anemia // Biochimica et biophysica acta. 2000. V. 1474. № 1. P. 75–87. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(99\)00218-4](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(99)00218-4)
29. Mohandas N., Gallagher P. G. Red cell membrane: past, present, and future // Blood. 2008. V. 112. № 10. P. 3939–48. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-161166>
30. Mohrenweiser H.W., Fielek S., Wurzinger K.H. Characteristics of enzymes of erythrocytes from newborn infants and adults: activity, thermostability, and electrophoretic profile as a function of cell age // American journal of hematology. 1981. V. 11. № 2. P. 125–36. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830110203>
31. Reinhart W.H., Huang C., Vayo M., Norwich G., Chien S., Skalak R. Folding of red blood cells in capillaries and narrow pores // Biorheology. 1991. V. 28. № 6. P. 537–49. <https://doi.org/10.3233/bir-1991-28605>
32. Vitvitsky V., Dayal S., Stabler S., Zhou Y., Wang H., Lentz S. R., Banerjee R. Perturbations in homocysteine-linked redox homeostasis in a murine model for hyperhomocysteinemia // American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology. 2004. V. 287. № 1. P. R39–46. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00036.2004>
33. Vitvitsky V.M., Frolova E.V., Martinov M.V., Komarova S.V., Ataulakhanov F.I. Anion permeability and erythrocyte swelling // Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands). 2000. V. 52. № 2. P. 169–77. [https://doi.org/10.1016/s0302-4598\(00\)00099-4](https://doi.org/10.1016/s0302-4598(00)00099-4)
34. Vitvitsky V., Kumar R., Libiad M., Maebius A., Landry A.P., Banerjee R. The mitochondrial NADH pool is involved in hydrogen sulfide signaling and stimulation of aerobic glycolysis // J. Biological Chemistry. 2021. V. 296. P. 100736. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100736>

## Principles of Regulation of Stationary Functioning Metabolic Systems

F. I. Ataulakhanov<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup>, M. V. Martinov<sup>1</sup>, S. V. Komarova<sup>6</sup>, and V. M. Vitvitsky<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup> Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology, RAS, Moscow, 109029 Russia

<sup>2</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

<sup>3</sup> Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow Region, Dolgoprudny, 141701 Russia

<sup>4</sup> University of Pennsylvania (UPENN), Philadelphia, PA 19104 USA

<sup>5</sup> Dmitry Rogachev National Medical Research Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, 117997 Russia

<sup>6</sup> Faculty of Dentistry, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

\*e-mail: victor\_vitvitsky@yahoo.com

**Abstract**—In the work the mechanisms of metabolic regulation that ensure homeostasis in the energy metabolism of the cell are discussed based on information obtained in human erythrocytes. It is shown that the rate of glycolysis is determined by the rate of ATP-consuming processes. ATP inhibits, and AMP activates glycolysis, providing a decrease in the rate of glycolysis with an increase in [ATP]. Adenylate kinase plays a significant role in regulation of glycolysis in cells providing a strong increase in [AMP] when [ATP] decreases. Simultaneous participation of ATP and AMP, linked via adenylate kinase equilibrium, in the regulation of glycolysis leads to the fact that actually the rate of glycolysis does not depend on the absolute concentrations of ATP and AMP, but on the relative concentration of ATP or on the cell energy charge. A sharp decrease in the rate of glycolysis with an increase in the cell energy charge in the area of its physiological values ensures stabilization of the energy charge when ATP consumption is activated. The conditions of steady states stability and the occurrence of bifurcations in the energy metabolism of the cell are discussed.

**Keywords:** homeostasis, energy metabolism, glycolysis, ATP, AMP, adenylate kinase, energy charge, steady state, stability, bifurcation

УДК 615.272.3:616.379-008.64

## РОЛЬ NO-ЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В РЕГУЛЯЦИИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА И РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

© 2022 г. Д. В. Куркин<sup>1</sup>, \*, Е. Е. Абросимова<sup>1</sup>, Д. А. Бакулин<sup>1</sup>, Н. С. Ковалев<sup>1</sup>, М. А. Дубровина<sup>1</sup>, А. В. Борисов<sup>2</sup>, В. И. Петров<sup>1</sup>, И. Н. Тюренков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград, 400131 Россия

<sup>2</sup>ГБУ Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, 400131 Россия

\*e-mail: strannik986@mail.ru

Поступила в редакцию 18.06.2021 г.

После доработки 20.08.2021 г.

Принята к публикации 02.09.2021 г.

Оксид азота выступает в качестве регуляторной молекулы, универсальной для большинства органов и тканей организма. Определена роль данной молекулы в регуляции углеводного обмена, а нарушения в работе NO-ергической системы часто предшествуют развитию многих патологий, в том числе и сахарного диабета. В данном обзоре анализируются современные данные о NO-ергической системе в общем и, главным образом, о роли оксида азота в регуляции углеводного обмена в норме и при патологии.

**Ключевые слова:** оксид азота, сахарный диабет, инсулинорезистентность, нарушения углеводного обмена

**DOI:** 10.31857/S0301179822010052

### ВВЕДЕНИЕ

Частота случаев возникновения сахарного диабета 2 типа и его осложнений неуклонно растет, особенно среди взрослого трудоспособного населения, что влечет за собой социально-экономические потери. Современная эндокринология располагает алгоритмами эффективной терапии СД2, применение которых позволяет установить надежный контроль над гликемией. Предусмотренные стандартными алгоритмами терапии СД2 гипогликемические средства могут иметь ряд существенных недостатков, снижая приверженность терапии и/или ее эффективность [1]. Например, бигуаниды (метформин) приводят к незначительному увеличению базального и постпрандиального уровня лактата в крови, а также часто вызывает дозозависимые побочные эффекты со стороны ЖКТ (диспепсию, диарею) [22]. Препараты сульфонилмочевины (ПСМ) способствуют гиперинсулинемии, что с течением времени может потенцировать инсулинорезистентность и ограничивать их пользу, также побочным эффектом ПСМ является увеличение массы тела от 2 до 5 кг, что является следствием повышения секреции инсулина [59]. Наиболее опасным побочным действием применения ПСМ является гипогликемия, развитие которой происходит вследствие постоянной стимуляции секре-

ции инсулина и сопровождается адаптационной секрецией адреналина, что в условиях эндотелиальной дисфункции потенциально угрожает развитием микро- и макроангиопатий. Однако в последнее время помимо строгого контроля гликемии, среди основных целей фармакотерапии находится профилактика осложнений, таких как микро- и макроангиопатии, нейро-, нефро-, кардио- и ретинопатии. Существующие препараты с доказанной эффективностью как в отношении уровня глюкозы в крови, так и предотвращения осложнений СД2 (инъекционные и пероральные агонисты ГПП-1, ингибиторы ДПП-4, ингибиторы SGLT-2) доступны не всем категориям пациентов ввиду высокой стоимости и их побочных эффектов. Так, имеются данные, что ингибиторы ДПП-4 демонстрируют небольшую эффективность, определенный риск развития панкреатита, а также незначительное снижение гликированно-го гемоглобина. При применении ГПП-1 среди побочных эффектов отмечается диспепсия и другие нежелательные явления со стороны ЖКТ [3]. Поэтому поиск высокоэффективных и малотоксичных препаратов для лечения СД 1 и 2 типа остается по-прежнему актуальной проблемой для теоретической и практической медицины.

В 1772 г. химик Д. Пристли в результате химической реакции разбавленной азотной кислоты с



медью получил, изучил и охарактеризовал химические свойства оксида азота. В течение последующих 200 лет этот газ рассматривали исключительно как побочный продукт производства, вредный для окружающей среды и живых организмов. В 1987 г. две отдельные лаборатории — Р. Ферчготта и Дж. Завадски и Луи Дж. Игнарро, который совместно Сальвадором Монкадой [55, 52] независимо друг от друга опубликовали доказательства того, что NO является эндотелий-зависимым фактором релаксации [89].

Оксид азота выступает в качестве сигнальной молекулы, локализуемой во всех органах и тканях, опосредующей в них различные меж- и внутриклеточные взаимодействия как в норме, так и при патологии.

Молекула NO имеет неспаренный электрон на внешней  $\pi$ -орбитали, обладает свойствами свободного радикала, что обуславливает высокую химическую реактивность и короткий период полужизни, составляющий в различных тканях от 0.1 до 10 с. За это время происходит его взаимодействие с мишенями (в основном тиолами и переходными металлами) или же окисление, в частности, цитохром-С-оксидазой до неактивных нитрата и нитрита, или же образование активных форм (нитрозоний, нитроксил, пероксинитрит). Среди факторов, влияющих на длительность активности NO, можно выделить состояние процессов свободнорадикального окисления, к примеру, оксид азота быстро реагирует и инактивируется активными формами кислорода. Малые размеры позволяют NO легко проникать через плазматические мембраны и взаимодействовать с внутриклеточными структурами, выступая в роли внутри- и межклеточного медиатора [4].

За последние годы представления об NO-ергической системе коренным образом поменялись: если первоначально она рассматривалась только с точки зрения ключевого фактора обеспечения гомеостаза сердечно-сосудистой системы, то в последующем установлена ее значительная роль в регуляции различных функций центральной и периферической нервной, эндокринной и иммунной систем, органов дыхания и ЖКТ.

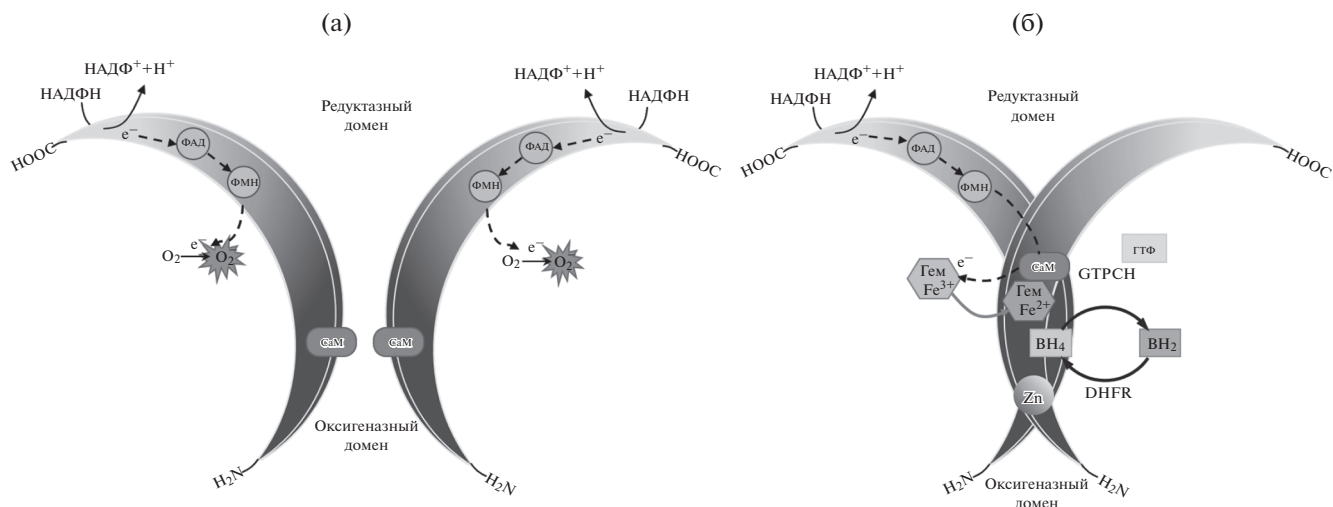
### БИОСИНТЕЗ NO

Эндогенный NO, в зависимости от клеточной локализации, образуется в основном ферментативным путем при участии одной из трех изоформ NO-синтаз (NOS), катализирующих серии окислительно-восстановительных реакций, сопровождающихся превращением, в присутствии кислорода и никотинамидадениндинуклеотида (НАДФН), L-аргинина в L-цитруллин и высвобождением NO. Ключевым кофактором всех изоформ NOS является тетрагидробиоптерин (BH4).

Другими кофакторами выступают флавиноадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН) и гем [58].

Процесс синтеза NO универсален для всех изоформ NOS и состоит из двух этапов. На первом этапе NOS гидроксилирует L-аргинин до N $\omega$ -гидрокси-L-аргинина (который остается в значительной степени связанным с ферментом). На втором этапе NOS окисляет N $\omega$ -гидрокси-L-аргинин до L-цитруллина и NO. Все изоформы NOS связывают кальмодулин. У nNOS и eNOS связывание кальмодулина вызывается увеличением внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> (полуМаксимальная активность между 200 и 400 нМ). Когда средство кальмодулина к NOS увеличивается, облегчается ток электронов от НАДФН в домене редуктазы к гему в домене оксигеназы. В индуцибельной NOS (iNOS) кальмодулин уже связывается при чрезвычайно низких внутриклеточных концентрациях Ca<sup>2+</sup> (ниже 40 нМ) из-за другой аминокислотной структуры сайта связывания кальмодулина. Все белки NOS содержат кластер цинк–тиолат, образованный ионом цинка, который тетраэдрически координирован с двумя мотивами CysXXXXCys (по одному от каждого мономера) на границе димера NOS. Цинк в NOS выполняет структурную, а не каталитическую функцию (рис. 1).

Деление NOS на изоформы проводят на основании их относительных различий в первичных аминокислотных последовательностях (аминокислотная идентичность всего 50–60%), тканевого или клеточного распределения, способа регуляции. Две изоформы этого фермента (eNOS и nNOS) экспрессируются конститутивно, регулируются посредством связывания кальмодулина и посттрансляционных модификаций. Активность iNOS регулируется на уровне транскрипции, а не Ca<sup>2+</sup>/кальмодулином, поскольку эта изоформа обладает большим средством к кальмодулину и поэтому может связывать его при очень низких концентрациях Ca<sup>2+</sup>. Уникальные свойства каждой изоформы NOS имеют важное значение, поскольку именно величина, продолжительность и клеточная локализация продукции NO определяют ее общий физиологический или патофизиологический эффект [78]. Кинетические параметры iNOS определяют уровень ее каталитической активности и поэтому iNOS продуцирует большее, по сравнению с другими изоформами, количество NO (измеряющееся в наномолях) [7]. Эта изоформа фермента участвует в иммунной защите, воспалительных реакциях и образовании NO эпителием дыхательных путей. Также iNOS практически не чувствительна к NO-зависимому аутоингибированию, что способствует генерации высоких уровней оксида азота с их превращением в токсичные формы, такие как пероксинитрит [92]. В то же время nNOS и eNOS, постоянно произво-



**Рис. 1.** Работа синтаз оксида азота (универсальна для всех изоформ).

(а) – Мономеры NOS способны переносить электроны от восстановленного НАДФ к ФАД и ФМН и обладают ограниченной способностью восстанавливать молекулярный кислород до супероксида. Мономеры и изолированные редуктазные домены могут связывать кальмодулин, который усиливает перенос электронов внутри него. Мономеры NOS не могут связывать кофактор ВН<sub>4</sub> или субстрат L-аргинин и не может катализировать продукцию NO.

(б) – В присутствии гема NOS может образовывать функциональный димер. Гем необходим для междоменного переноса электронов от флавинов к гему противоположного мономера. Когда присутствует достаточное количество L-аргинина (L-Arg) и ВН<sub>4</sub>, образуется полностью функциональная NOS. L-цитруллин образуется как побочный продукт

дят более низкие количества NO (в пикомолях), которые важны для физиологических процессов, таких как вазодилатация, контроль артериального давления, нейрональная передача сигналов, ингибирование системы гемостаза и др.

Основным рецептором NO является растворимая гуанилатциклаза (рГЦ), относящаяся к группе нуклеотидциклаз наряду с аденилатциклазой и мембарносвязанной гуанилатциклазой. рГЦ представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц –  $\alpha$  и  $\beta$ , которые образуют функциональный фермент. Для активации рГЦ необходимо две молекулы NO: первая молекула связывается с  $\beta$ -субъединицей рГЦ с пиколярным сродством, частично активируя ее приблизительно до 15% от ее максимальной активности [23, 41]. Полная активация рГЦ зависит от концентрации NO и происходит после связывания второй молекулы NO, которое происходит при наномолярном сродстве. Конформационное изменение рГЦ после связывания NO является этапом, ограничивающим скорость его активации. Повышенные уровни циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) активируют нижестоящие элементы сигнального пути NO протеинкиназа G (PKG), цГМФ-управляемые катионные каналы и цГМФ-регулируемые фосфодиэстеразы и опосредуют его физиологические действия [34].

В последнее время много внимания уделяется данным, касающимся роли NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена, в частности влиянию на функции поджелудочной железы.

Сведения о роли NO в секреции инсулина противоречивы: были описаны как стимулирующие, так и ингибирующие эффекты.

## РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА

### *Механизмы, опосредующие стимулирующее действие NO на секрецию инсулина*

$\beta$ -клетки поджелудочной железы экспрессируют все три изоформы NOS. nNOS обычно считается основной изоформой с многофункциональными свойствами в поджелудочной железе: она в основном обнаруживается в секреторных гранулах инсулина, но также в митохондриях и ядре [88, 51, 64]. Активность nNOS положительно регулируется  $Ca^{2+}$ /кальмодулином, глюкозой и пальмитатом, отрицательно – провоспалительными цитокинами. Дифференциальные роли nNOS и eNOS в регуляции функций  $\beta$ -клеток не определены, однако предполагается nNOS может участвовать в регуляции секреции инсулина, а eNOS – в защите от апоптоза. Это подтверждается данными о том, что nNOS в первую очередь распределяется на грануле инсулина в  $\beta$ -клетках, а экспрессия eNOS имеет защитный эффект при повреждении  $\beta$ -клеток в результате оксидативного стресса, в том числе экспериментально индуцированного такими агентами, как стрептозотозин или аллоксан [66]. iNOS не обнаруживается в  $\beta$ -клетках при базальных концентрациях глюко-

зы, но ее экспрессия увеличивается при высокой концентрации глюкозы в цитоплазме [39].

#### *Оксид азота увеличивает синтез инсулина*

В работе Campbell с соавт. сообщалось об увеличении синтеза инсулина после обработки NO как в  $\beta$ -клетках линии Min6, так и в интактных островках поджелудочной железы [17]. У крыс с диабетом, моделированным высокожировой диетой и введением стрептозотоцина, отмечали низкое содержание островкового инсулина, однако длительное введение нитритов этим крысам увеличивало содержание инсулина в  $\beta$ -клетках, что указывает на усиление его синтеза [32]. Стимулирующее действие NO связывают с его активацией промотора гена инсулина в  $\beta$ -клетках Min6 с максимальной 2.5-кратной стимуляцией через 24 ч, причем данный эффект отменялся ингибитором PI3-киназы (вортманнин). Эти данные указывают на значимость данного фермента для активации промотора гена инсулина NO. Кроме того, NO дополнительно увеличивает экспрессию гена эндогенного инсулина в клетках Min6 и в изолированных  $\beta$ -клетках крыс, способствуя накоплению в ядре PDX-1 (панкреатический и дуоденальный гомеобокс-фактор-1) и его последующему связыванию с промотором гена инсулина [17]. PDX-1 играет важную роль в  $\beta$ -клетках, связывая метаболизм глюкозы с событиями в ядре  $\beta$ -клетки. Повышение уровня глюкозы приводит к активации PDX-1 и перемещению его из цитоплазмы в ядро  $\beta$ -клетки, где он связывается с промотором гена инсулина и активирует его.

#### *Оксид азота увеличивает уровень цГМФ в $\beta$ -клетках*

Основным механизмом действия NO, в том числе и в  $\beta$ -клетках, является цГМФ-зависимый путь. Секреция инсулина зависит от стимуляции и ингибирования рГЦ различными агентами. Стимулирующее действие гидроксиламина на секрецию инсулина подавлялось соединением ODQ (1H-[1, 2, 4]-оксадиазоло-[4,3-а]-хиноксалин-1-он) ингибитором рГЦ. Способность NO активировать синтез инсулина опосредовалась активацией ГЦ соединением YC-1 (3-(5-гидрокси-метил-3-фурил)-1-бензилиндазол) и мембранопроницаемым аналогом цГМФ (8-(4-хлорфенилтио)-цГМФ) в клетках INS-1 и в крысиных  $\beta$ -клетках [87]. Повышенные уровни цГМФ увеличивают приток  $Ca^{2+}$  при уровне глюкозы, равной 7 мМ, но этого не происходит при ее концентрации 2.8 мМ. Это, по-видимому, является результатом активации потенциал-зависимых кальциевых каналов в  $\beta$ -клетках крыс, поскольку повышение  $Ca^{2+}$  устраняется дигидропиридиновым блокатором кальциевых каналов — никар-

дипином [62]. Разность эффектов, оказываемых NO в зависимости от его концентраций, может объясняться тем, что низкие уровни действуют через путь NO/рГЦ/цГМФ, в то время как высокие проявляют свои эффекты независимо от цГМФ [53]. Также путь NO/рГЦ/цГМФ участвует в других положительных эффектах, оказываемых на  $\beta$ -клетки, таких как усиление островкового кровотока [70] и уменьшение апоптоза [92].

#### *Механизм влияния NO на увеличение внутриклеточных уровней $Ca^{2+}$ в $\beta$ -клетках*

NO увеличивает внутриклеточные уровни  $Ca^{2+}$  в  $\beta$ -клетках за счет его мобилизации из внутриклеточных депо, таких как эндоплазматический ретикулум и митохондрии [50, 98], или посредством ингибирования K-каналов с последующей деполяризацией мембран, которая приводит к открытию потенциал-зависимых кальциевых каналов. Применение диазоксида, специфического активатора  $K_{ATP}$ -каналов, может ингибировать стимулированное гидроксиламином высвобождение инсулина в клетках INS-1. В этом исследовании визуализировали  $Ca^{2+}$  с помощью Fura-2, что показало стимулирующее действие гидроксиламина, которое выражалось резким повышением  $Ca^{2+}$  в клетке. Данное повышение концентрации  $Ca^{2+}$  было подобно тому, которое наблюдается при стимуляции глюкозой в концентрации 15 мМ, причем ответ на  $Ca^{2+}$  происходит одновременно с деполяризацией мембраны [87].

Другой механизм повышения концентрации  $Ca^{2+}$  заключается в том, что NO, связываясь с цитохромом C и/или цитохромоксидазой, снижает активность дыхательной цепи митохондрий, вызывая снижение потенциала митохондриальной мембраны и мобилизацию  $Ca^{2+}$  из этих органелл [82]. Добавление низких концентраций NO к клеткам INS-1 приводит к быстрому увеличению секреции инсулина, сопровождаемой снижением потенциала на митохондриальной мембране, а также периодическим повышением  $Ca^{2+}$  в цитозоле. Кроме того, NO-индуцированное высвобождение  $Ca^{2+}$  из митохондрий и повышенная секреция инсулина не зависят от уровня внеклеточного  $Ca^{2+}$ , поскольку хелатирование внутриклеточного  $Ca^{2+}$  снижает секрецию инсулина, индуцированную NO, в то время как хелатирование внеклеточного  $Ca^{2+}$  подобного влияния не оказывало [50]. NO, повышая уровни цГМФ не только увеличивает секрецию инсулина [44], но также защищает  $\beta$ -клетки от чрезмерного увеличения внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , предупреждая их апоптоз [47].

Высокие уровни  $Ca^{2+}$  также увеличивают продукцию NO в клетках INS-1 [87]. Nunemaker с со-

авт. отметили, что индукция синтеза NO предшествует началу процесса секреции инсулина. Хотя продукцию NO можно обнаружить до повышения внутриклеточных уровней  $Ca^{2+}$  [69], неясно, происходит это, потому что уровни  $Ca^{2+}$ , необходимые для активации NOS, на самом деле ниже пороговых значений для обнаружения визуализирующим красителем Fura-2. Представленные данные свидетельствуют о том, что продукция NO на ранней стадии оказывает положительный эффект на секрецию инсулина.

*Оксид азота действует посредством S-нитрозилирования белков*

NO посредством S-нитрозилирования глюкокиназы (по цистеину-371) и синтаксина 4 (по цистеину-141) способствует синтезу инсулина, стимулированного глюкозой [83]. Используя количественную визуализацию глюкокиназы с помощью присоединенных к ней разных флуоресцентных белков, было показано, что динамическая ассоциация глюкокиназы с секреторными гранулами  $\beta$ -клеток модулируется NO. Было обнаружено, что инсулин, стимулируя выработку NO в культивируемых  $\beta$ -клетках, приводит к S-нитрозилированию глюкокиназы ( $\beta$ TC3 клетках). Ингибирование NOS нарушает ассоциацию глюкокиназы с секреторными гранулами и ее конформацию. Было показано, что повышенное содержание глюкозы и S-нитрозилирование индуцируют одно и то же конформационное состояние, соответствующее высокой активности глюкокиназы в клетках линии  $\beta$ TC3 [83]. Регуляция локализации и активности глюкокиназы в  $\beta$ -клетках напрямую связана с продукцией NO, и ассоциация глюкокиназы с секреторными гранулами происходит через ее взаимодействие с NOS [75].

Растворимые белки прикрепления NSF (SNARE), опосредующие экзоцитоз инсулиновых везикул, также подвергаются S-нитрозилированию [30]. Эти белки можно разделить на две категории: везикулярные (v)-SNARE из мембраны везикул и таргетные (t)-SNAREs от целевой мембраны. Последние включает семейства синтаксина и ассоциированного с синапсом белка-25 (SNAP-25), тогда как v-SNARE относится к ассоциированным с везикулами мембранным белкам (VAMP) [46].

Белки SNARE посттрансляционно модифицируются NO, что, в свою очередь, влияет на экзоцитоз везикул. NO-стимулированный экзоцитоз везикул опосредуется активацией белков корового комплекса, участвующих в стыковке и слиянии везикул. В экспериментах с использованием рекомбинантных белков доноры NO (нитропруссид натрия (SNP), подкисленный нитрит на-

трия, S-нитрозоглутатион, S-нитрозоцистеин и насыщенный раствор, содержащий газообразный NO, увеличивают образование основного комплекса VAMP/SNAP-25/синтаксин-1a. Эти доноры NO снижают  $EC_{50}$  связывания VAMP с SNAP-25/синтаксином [63]. Кроме того, S-нитрозилирование синтаксина-1a (по цистеину-145), по-видимому, является молекулярным регулятором, облегчая его взаимодействие с аппаратом слияния мембран [72]. Предполагается, что вместе взятые эти активности будут способствовать стыковке/слиянию везикул.

*Оксид азота увеличивает кровоток в  $\beta$ -клетках*

NO является ключевым регулятором островкового кровотока. Улучшение микроциркуляции в  $\beta$ -клетках способствует оксигенации и питанию клеток, что является еще одним механизмом позитивного действия NO на секрецию инсулина [70]. Секреция инсулина может быстро модулироваться за счет изменения микроциркуляции в  $\beta$ -клетках, поскольку они имеют хорошо развитую сосудистую сеть с сильно фенестрированным эндотелием, что позволяет быстро и эффективно доставлять кислород и питательные вещества к эндокринным клеткам, а также опосредовать поступление инсулина в системный кровоток. Уровень кровотока в  $\beta$ -клетках может регулироваться независимо от экзокринной части поджелудочной железы [45]. Nystrom и его коллеги изучали влияние нитрита на кровоток в  $\beta$ -клетках крысы, динамические изменения секреции инсулина и гликемии. Они обнаружили, что нитрит натрия усиливает микроциркуляцию в  $\beta$ -клетках без влияния на общий кровоток поджелудочной железы; это усиление сопровождалось увеличением концентрации инсулина в плазме без изменения уровня гликемии, что может объясняться мобилизацией контринсулярных гормонов, таких как глюкагон и кортизол. Уровень кровотока в  $\beta$ -клетках повышался под действием агониста цГМФ. Повышенный нитритом натрия кровоток в  $\beta$ -клетках снижался после введения ингибитора ГЦ или поглотителя NO [70]. Это указывает на то, что индуцированная NO вазодилатация опосредуется путем ГЦ/цГМФ/PKG. Ингибирование NOS введением L-NAME снижает кровоток не только в  $\beta$ -клетках, но во всей поджелудочной железе как у нормальных, так и у диабетических крыс. Таким образом, NO играет важную роль в регуляции кровообращения поджелудочной железы, обеспечивая оперативную вазодилатацию, компенсирующую возросшую (в период поступления глюкозы с пищей) интенсивность работы  $\beta$ -клеток [21].

### *Негативная роль NO в регуляции секреции инсулина*

Отмеченное выше позитивное действие NO в отношении секреции инсулина в некоторых работах не только оспаривается, но даже опровергается. Так, подавление активности NOS у мышей (L-NAME, L-NMMA или 7-нитроиндазол) сопровождается увеличением секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой  $\beta$ -клеток [25], что указывает на отрицательную роль NO в секреции инсулина.

Что касается механизма, по которому ингибирует секрецию инсулина, предполагается, что существует несколько механизмов. Во-первых, NO влияет на ток ионов через мембрану. Было показано, что гидроксилламин снижает поступление  $Ca^{2+}$  через его потенциалзависимые каналы, увеличивая отток  $K^+$  из  $\beta$ -клеток, этот эффект ослабляется глибенкламидом. Гидроксилламин не влияет на отток  $Ca^{2+}$ , концентрация которого повышается вследствие  $K^+$ -индуцированной деполяризации, что усиливает эффект гидроксилламина на отток  $K^+$ . Отсутствие влияния гидроксилламина на катионный ответ при стимуляции  $K^+$ , указывает на то, что снижение притока  $Ca^{2+}$  можно рассматривать как следствие активации  $K^+$  канала. NO способен не только ингибировать активность различных лизосомальных ферментов после прямого добавления к гомогенатам островков, но также избирательно подавляет активность кислых  $\alpha$ -глюкозидгидролаз в изолированных островках, вместе с тем ингибируя высвобождения инсулина, стимулированное глюкозой [33]. Во-вторых, NO реагирует с рядом белков, содержащих сульфгидрильную группу, которые важны для связывающего глюкозу сайта глюкокиназы и являются мишенью для окислителей, наиболее вероятно, что образуются S-нитрозотиолы: важные тиоловые группы в молекуле фермента  $\alpha$ -глюкозидгидролазы, нитрозилированы и, таким образом, инактивированы. Также путем образования железонитрозильных комплексов с FeS-содержащими ферментами, такими как аконитаза, NO вызывает обратимую инактивацию митохондриального фермента. Такие механизмы были раскрыты при исследованиях индуцибельной формы NO-синтазы в инсулино-продуцирующих клетках [65]. Таким образом, представленные данные свидетельствуют о важной роли NO-ергической системы в регуляции продукции и высвобождения инсулина и соответственно в регуляции углеводного обмена. Вместе с тем в литературе есть полярные данные об участии NO, которые не совсем или не всегда соответствуют представленным выше.

### *Противоречивость данных о влиянии NO на синтез инсулина*

Обозначенная выше неоднозначность в определении роли NO в отношении влияния на синтез и секрецию инсулина может являться следствием некоторых причин. Основная часть противоречий относительно роли NO в секреции инсулина возникает из-за использования различных и, возможно, несовместимых модельных систем, таких как:

- линии  $\beta$ -клеток с разными качественными/количественными паттернами секреторных реакций по сравнению с нормальными  $\beta$ -клетками [33];
- инкубация  $\beta$ -клеток/ $\beta$ -клеточных линий с различным (высоким или низким) уровнем глюкозы. Концентрация глюкозы, используемая в исследованиях, может быть причиной несовпадающих эффектов NO на секрецию инсулина: при низкой концентрации глюкозы (7 мМ) L-NAME не влияет на секрецию инсулина изолированными  $\beta$ -клетками у мышей, неподвергнутых пищевой депривации, но незначительно стимулирует секрецию инсулина  $\beta$ -клетками голодных животных. При высоких концентрациях глюкозы (20 мМ) L-NAME усиливает секрецию инсулина  $\beta$ -клетками как у мышей, получавших пищу без ограничений, так и у голодных. Сверхэкспрессия iNOS, наблюдаемая при высоких концентрациях глюкозы в крови, и высокая секреция инсулина в ответ на введение L-NAME могут быть связаны с ингибирующим действием L-NAME на iNOS [33];
- концентрации применяемых ингибиторов NOS – еще один фактор, который следует учитывать. Влияние L-NAME на секрецию инсулина, по-видимому, зависит от концентрации, поскольку концентрации 0.1–5.0 мМ не оказывали значительного влияния на высвобождение базального инсулина в изолированных в  $\beta$ -клетках мыши, в то время как при его введении в высокой концентрации (10 мМ) происходит 3-кратное увеличение секреции инсулина [33];
- использование разных типов внеклеточных/внутриклеточных доноров NO [33];
- различные ферментативные активности различных изоформ NOS, экспрессируемых в островках [33].

### **ОКСИД АЗОТА И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ**

Инсулинорезистентность это основная патогенетическая причина и/или следствие СД2, ожирения и метаболического синдрома. Поскольку NO-ергическая система широко представлена в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы, на-

рушения в ее функционировании вносят свой вклад в патофизиологию ожирения и диабета.

Известно, что хроническое системное воспаление связано с нарушением передачи сигналов инсулина, что влечет за собой развитие так называемых метаболических заболеваний, таких как ожирение. Несколько путей и внутриклеточных механизмов вовлечены в запуск этих патологических процессов, включая избыточную продукцию оксида азота NO из-за активации iNOS [35]. Активация iNOS, которая может быть вызвана провоспалительными цитокинами [60], также была описана как потенциальная причина инсулинорезистентности, состояния, которое часто предшествует этим метаболическим нарушениям [80].

Была установлена связь между активацией воспаления и стрессом эндоплазматического ретикула при ожирении. Эндоплазматический ретикулум (ЭР) — это органелла, ответственная за синтез, фолдинг, созревание, транслокацию и процессинг почти всех белков, которые находятся или проходят через эндомембранную систему эукариотических клеток [42]. Однако при некоторых патологических состояниях нарушается нормальная работа ЭР (ЭР-стресс), что приводит к накоплению неправильно свернутых белков в его просвете, в свою очередь, подобное накопление активирует внутриклеточные пути передачи сигнала, называемые ответом развернутого белка [76]. ЭР-стресс и последующая ответная реакция на неправильно свернутые белки поначалу оказывает защитное действие и служит механизмом компенсации, но продолжительная активация может вызвать повреждение сосудов. При этом ожирение, по-видимому, стимулирует развитие хронического ЭР-стресса в периферических тканях, что может быть вероятным механизмом, участвующим в возникновении инсулинорезистентности и СД2 [54]. Вариант терапии синтетическими шаперонами, увеличивающими способность ЭР осуществлять фолдинг улучшает чувствительность к инсулину и его действие в периферических тканях [73].

Взаимосвязь между iNOS и ЭР-стрессом сложна и двунаправлена: увеличение уровня NO, продуцируемого iNOS, может вызвать ЭР-стресс и позже усилить ее экспрессию посредством активации факторов транскрипции гена [103]. В исследовании Zanotto на мышцах, нокаутных по гену iNOS, было показано, что животные этой линии в условиях высокожировой диеты сохраняли чувствительность к инсулину в мышечной ткани и частично — в печени и жировой ткани, что позволяет предположить, что при ожирении также существует ЭР-стресс независимый от активности iNOS [101].

NO вносит вклад в патогенез инсулинорезистентности, поскольку ингибирование iNOS предотвращает, а ингибирование eNOS способствует диет-индуцированной (высококалорийная жировая диета) инсулинорезистентности. Избыточная продукция NO посредством iNOS играет роль в развитии СД2, а нарушения в работе гена iNOS препятствуют инсулинорезистентности. Вероятный механизм данного эффекта заключается в том, что NO, продуцируемый iNOS, в печени крыс вызывает активацию N-концевой киназы c-Jun (JNK), которая фосфорилирует адаптор субстрат инсулинового рецептора-1 (IRS-1) по серину 307 и вызывает снижение чувствительности к инсулину. Было высказано предположение, что ассоциированная со свободными жирными кислотами (СЖК) потеря  $\beta$ -клеток (характерна на поздних стадиях СД2), происходит из-за гиперпродукции NO, сопровождаемой повышением интерлейкина-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), что усиливает дисфункцию и гибель  $\beta$ -клеток [85]. Изолированные  $\beta$ -клетки, которые подвергались действию IL-1 $\beta$  в среде без аргинина (без возможности синтеза NO) не повреждались [74].

NO стимулирует трансэндотелиальный транспорт (ТЭТ) инсулина за счет S-нитрозилирования сигнальных белков, которое может положительно или отрицательно влиять на действие, секрецию и клиренс инсулина [19]. NO может усиливать эффекты инсулина за счет S-нитрозилирования транспортера глюкозы-4 (GLUT4) (положения 451 и 453) и протеин-тирозинфосфатазы 1B (PTP1B), высокая экспрессия которой наблюдается в мышечной и жировой ткани людей и грызунов с ожирением. Напротив, снижение эффектов инсулина происходит путем дефосфорилирования IRS-1 [40].

S-нитрозилирование также способствует диабетическим осложнениям, нарушая ранние этапы пути передачи сигналов инсулина в скелетных мышцах, жировой ткани и печени. S-нитрозилирование как Akt (протеинкиназы B) (цистеин 224), так и IRS является основным механизмом iNOS-индуцированной инсулинорезистентности при диабете и ожирении соответственно [29, 18].

При ожирении NO, продуцируемый iNOS, вызывает S-нитрозилирование и, следовательно, активацию ядерного фактора каппа B (NF $\kappa$ B) [99], который снижает продукцию NO eNOS. Кроме того, S-нитрозилирование ингибирует индуцированный инсулином захват глюкозы в печени, скелетных мышцах и жировой ткани, а также снижает антилиполитический эффект инсулина [18].

Как было упомянуто выше, в зависимости от концентрации в  $\beta$ -клетках NO оказывает положительное или отрицательное регулирование

секреции инсулина, проявляет анти- или проапоптотическую активности.

В метаанализе, проведенном Assmann с соавт. было выявлено, что у пациентов с СД1 или СД2 уровни оксидов азота ( $\text{NO}_x$ ) были значительно выше. Однако для подтверждения этих данных необходимы дальнейшие исследования. Негативное действие NO может проявляться вследствие его взаимодействия с  $\text{O}^{2-}$ , что приводит к дальнейшему разобщению eNOS, снижая биодоступность оксида азота и увеличивая оксидативный и нитрозативный стресс, повышая содержание активных форм кислорода (АФК) и  $\text{NO}_x$ . Предполагается, что высокие показатели  $\text{NO}_x$  у пациентов с сахарным диабетом связаны с активностью iNOS и, соответственно, избыточной продукцией NO. Провоспалительные цитокины и окислительный стресс, вызванные гипергликемией и/или гипоксией выступают факторами, провоцирующими активацию iNOS [5]. Кроме того, уровни  $\text{NO}_x$  положительно коррелируют с уровнями глюкозы в крови натощак и/или  $\text{HbA1c}$  как у пациентов с СД1, так и у пациентов с СД2 [84]. Следует отметить, что альтернативным источником NO, уровень которого повышается у пациентов с диабетом, является ксантин оксидоредуктаза (XOR), фермент, который может увеличивать содержание NO за счет восстановления нитрита [11]. Следовательно, iNOS и XOR могут повышать концентрации NO до такой степени, что NO может вступать в реакцию с  $\text{O}^{2-}$  и, таким образом, накапливаться в виде пероксинитрита, нитрита и нитрата в сыворотке или плазме больных диабетом [8].

NO оказывает влияние не только на секрецию инсулина  $\beta$ -клетками, но и на их выживаемость, в чем также наблюдается зависимость от концентрации двойственность эффектов. В токсических концентрациях (выше 10 нМ) NO вызывает повреждение клеток и нарушает их функцию, однако в нетоксических (ниже 10 нМ) он способствует их выживанию, активируя противоапоптотические механизмы. NO предотвращает апоптоз  $\beta$ -клеток, ослабляя ответ на повреждение ДНК (DDR). NO подавляет активацию DDR в ответ на несколько генотоксических агентов, включая камптотецин,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и сам NO. В то время как камптотецин и  $\text{H}_2\text{O}_2$  вызывают активацию DDR, NO подавляет только апоптоз, вызванный камптотецином, а не некроз, индуцированный  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Способность NO подавлять DDR, по-видимому, является избирательной для  $\beta$ -клеток, поскольку NO не может ингибировать передачу сигналов DDR в макрофагах, гепатоцитах и фибробластах. Таким образом, определена роль NO как защитной молекулы, которая способствует выживанию  $\beta$ -клеток за счет подавления передачи сигналов DDR и

ослабления апоптоза, вследствие повреждения ДНК [71].

#### *Роль NO в транспорте инсулина*

Резистентность к инсулину тесно связана со снижением биодоступности NO и эндотелиальной дисфункцией. В сосудистой сети NO опосредует множество процессов, влияющих на доставку инсулина, включая расширение терминальных артериол в скелетных мышцах. Однако неизвестно, регулирует ли NO напрямую поглощение инсулина эндотелиальными клетками и его ТЭТ.

В исследовании Wang с соавт. сообщалось, что предварительная обработка L-NAME блокировала, а L-аргинином или нитропруссидом натрия (SNP) увеличивали поглощение инсулина эндотелиальными клетками (ЭК), инсулина, меченого флуоресцеинизотиоцианатом (FITC). SNP также частично или полностью устранял ингибирование захвата инсулина ЭК, вызванное L-NAME, вортманнином, ингибитором протоонкогенной тирозинпротеинкиназы (Src) PPI и (фактор некроза опухоли) TNF- $\alpha$ . Кроме того, SNP стимулировал ТЭТ на ~40%. Лечение инсулином с SNP и без него не влияло на уровни цГМФ в ЭК, а аналог цГМФ 8-бром-цГМФ не влиял на поглощение FITC-инсулина. Лечение инсулином и SNP значительно увеличивало S-нитрозилирование белков ЭК, совместную локализацию S-нитрозотиола (S-NO) и PTP1B, фосфорилирование Akt (по Ser473) и подавляло активность PTP1B. Диета с высоким содержанием жиров приводила к значительно меньшему ответу ЭК на стимулирование инсулином фосфорилирования Akt и поглощение FITC-инсулина и которое, в эксперименте на крысах, частично отменялось SNP. Ингибирование S-нитрозилирования путем нокаута белка, взаимодействующего с тиоредоксином, полностью устраняло стимулированное SNP поглощение FITC-инсулина. Таким образом, NO напрямую способствует транспорту инсулина через ЭК за счет усиления S-нитрозилирования белка и усиливает передачу сигналов инсулина, подавляя активность PTP1B [96].

На доставку инсулина в мышцы влияют скорость кровотока, его распределение и ТЭТ. Важно отметить, что доставка инсулина в межклеточное пространство миоцитов является лимитирующим этапом периферического действия инсулина и замедляется у людей с инсулинорезистентностью и/или ожирением, что указывает на важную роль этого транспортного процесса в периферической инсулинорезистентности [96]. Эндотелиальная дисфункция, вторичная по отношению к сниженной биодоступности NO, является ранним и характерным признаком инсулинорезистентности. Эндотелиальная NO-синтаза активируется инсулином. Нокаут eNOS или

ингибирование передачи сигналов инсулина за счет эндотелий-специфического нокаута *IRS2*, приводящего к снижению активности *eNOS* в ЭК сосудов, вызывает метаболическую резистентность к инсулину. Нокаут эндотелиального *IRS2* ингибирует индуцированное инсулином увеличение количества перфузируемых микрососудов и снижает доставку инсулина в интерстиций мышц. Однако неизвестно, является ли снижение доставки инсулина результатом снижения кровотока, изменения его распределения, нарушения ТЭТ инсулина или их комбинации [49]. Инсулин, увеличивая продукцию *NO* вызывает вазодилатацию, чтобы облегчить его доставку в периферические ткани.

Рецептор инсулина и кавеолы эндотелия опосредуют поглощение инсулина ЭК. Однако этот процесс подавляется либо ингибированием внутриклеточной передачи сигналов инсулина, либо применением *TNF- $\alpha$* . И наоборот, стимуляция внутриклеточной передачи сигналов инсулина путем ингибирования *PTP1B* увеличивает его поглощение [97].

Экзогенный *NO* стимулировал захват и ТЭТ инсулина в ЭК аорты. Также было обнаружено, что *NO* частично или полностью восстанавливает поглощение инсулина клетками, предварительно обработанными ингибиторами сигнальных путей инсулина [96].

#### *Инсулинорезистентность и гипоталамус*

Данные исследований последних лет показали, что инсулинорезистентность связана не только с периферическими процессами, но и может быть обусловлена различными процессами, протекающими в ЦНС, в частности в гипоталамусе – высшем центре регуляции вегетативной системы, включая метаболические процессы, нейроиммунную и эндокринную системы [24].

Индуцированное *iNOS* S-нитрозилирование внутриклеточных метаболических путей является повсеместным процессом, которому способствует хроническое воспаление, связанное с ожирением. Как было показано ранее, S-нитрозилирование сигнального пути инсулина способствует увеличению инсулинорезистентности в печени и мышечной ткани [77].

У людей с ожирением усиленное гипоталамическое S-нитрозилирование сигнального пути инсулина является важным механизмом в развитии инсулинорезистентности. Более того, повышенное гипоталамическое S-нитрозилирование инсулинового рецептора (*IR*) и *Akt* было связано со снижением фосфорилирования этих ферментов, что согласуется с нарушением их ферментативной активности [99]. Соответственно, устранение S-нитрозилирования с помощью физиоло-

гических, фармакологических и генетических подходов может привести к устранению инсулинорезистентности. Взятые вместе, эти данные предполагают, что ожирение опосредует резистентность к инсулину, по крайней мере частично, за счет индукции S-нитрозилирования *IR* и *Akt*.

Фармакологическая модуляция активности гипоталамической *NOS* способствует устойчивым изменениям в потреблении пищи и энергетическом метаболизме. Ингибирование *iNOS* приводит к потере веса у мышей *ob/ob* в то время, как введение лептина и нейропептид-*Y* (*NPY*) повышает уровни *NO* в гипоталамусе. Вызванное *GSNO* (S-нитрозоглутатионом) 50 мкМ S-нитрозилирование сигнальных путей инсулина способствует развитию резистентности гипоталамуса к лептину и *NPY* и увеличивает потребление пищи, что ведет к увеличению массы тела. У грызунов с ожирением уровни *iNOS* и, как следствие, количество S-нитрозилированных белков сигнальных путей инсулина в гипоталамусе повышено. Соответственно, подавление экспрессии или активности *iNOS* физиологическими, фармакологическими или генетическими методами может снизить потребление пищи и способствовать уменьшению массы тела. Таким образом, индуцированное *iNOS* S-нитрозилирование сигнального пути инсулина вызывает хронические изменения в энергетическом гомеостазе, что способствует ожирению [48].

Нейровоспаление, в том числе вызванное ожирением, – самоусиливающийся патофизиологический процесс [15]. Несмотря на повышенную экспрессию *iNOS* во множестве состояний, связанных с острым или хроническим воспалением, патофизиологическая роль *iNOS* является сложной, иногда двойственной [28]. Интересно, что S-нитрозилирование связано с противовоспалительным действием *NO*. В частности, S-нитрозилирование снижает активность провоспалительных молекул, таких как *JNK*, *IKK $\beta$*  и *NF $\kappa$ B*, которые также связаны с нейровоспалением и нейродегенерацией, опосредованными ожирением [56]. С другой стороны, S-нитрозилирование *IR* и *Akt* частично устраняет потенциальные провоспалительные эффекты и, следовательно, способствует развитию ожирения, усиливая посредством S-нитрозилирования *IR* и *Akt* резистентность к инсулину.

Известно, что гипоталамус влияет на метаболизм глюкозы и липидов, регулируя энергетический баланс организма [100]. Различные подходы к созданию изолированной нейрональной инсулинорезистентности неизменно приводили к прогрессированию ожирения [36]. Внутривенное введение *GSNO* 50 мкМ индуцировало инсулинорезистентность, приводило к увеличению массы тела, уровня лептина и периферической



инсулинорезистентности. Интрацеребровентрикулярная инфузия GSNO снижала уровни триглицеридов (ТГ) у крыс, несмотря на периферическую инсулинорезистентность, тогда как у мышей с нокаутом iNOS уровни ТГ были повышены. Учитывая, что секреция ЛПОНП и ТГ в печени чувствительна к введению в ЦНС жирных кислот, NPY, глицина и глюкозы, возможно, что инфузия GSNO непосредственно модулирует метаболизм липидов.

Возможно также, что помимо S-нитрозилирования, нитрование может участвовать в развитии iNOS-индуцированной гипоталамической инсулинорезистентности. В этом контексте Charbonneau и Marette показали [20], что после инфузии липидов ковалентная связь пероксинитрита (ONOO<sup>-</sup>) с IR, IRS-1, IRS-2 и Akt также участвует в развитии резистентности к инсулину. Аналогично этим эффектам, нитрование JAK2 было связано с увеличением резистентности к гормону роста [48]. Следовательно, эти два посттрансляционных феномена (S-нитрозилирование и нитрование) могут взаимодействовать, что влечет нарушение передачи сигналов инсулина.

Таким образом, была показана центральная роль iNOS и S-нитрозилирования в контроле энергетического гомеостаза как в норме, так и при патологии. У животных с ожирением индуцированное iNOS S-нитрозилирование сигнального пути инсулина сильно подавляло передачу сигналов этого гормона и способствовало увеличению потребления пищи. В совокупности эти данные предполагают, что ингибирование S-нитрозилирования сигнального пути инсулина может быть важной терапевтической мишенью в лечении ожирения и связанных с ним заболеваний. Однако раскрытие механизмов, которые противодействуют регулированию сигнальных белков S-нитрозированного инсулина является предметом дальнейших исследований [48]. Изучение этих механизмов представляет значительный интерес для понимания процессов нарушения центральной регуляции углеводного и липидного обмена.

#### *Инсулинорезистентность и эндотелий*

НАДФН-оксидаза (NOX) является ключевой молекулой в развитии эндотелиальной дисфункции и основным источником продукции АФК в эндотелиальных клетках. СД2 характеризуется нарушением контроля окислительно-восстановительного баланса с перепроизводством АФК. Эндотелиальная NOS, продуцирующая NO является основными эндотелиопротекторным фактором [2]. Функция эндотелия поддерживается сосудорасширяющими (например, NO, простагландинами,) и сосудосуживающими факторами (например, ET-1, ангиотензин II). Активация пу-

ти PI-3K/Akt вызывает фосфорилирование и активацию eNOS [91].

Эндотелиальная дисфункция и инсулинорезистентность способствуют нарушению клеточного поглощения глюкозы, NO-зависимой вазодилатации, усилению окислительного стресса и воспалению.

Повышенные уровни цитокинов, включая C-реактивный белок, TNF- $\alpha$  и интерлейкин-6 (IL-6), ингибируют стимулированное инсулином производство NO за счет снижения экспрессии eNOS, что приводит к ингибированию пути PI3K/Akt/eNOS [102]. Ожирение и СД2 связаны с повышенными уровнями лептина и резистина, которые вызывают увеличение TNF- $\alpha$  и IL-6. Кроме того, лептин усиливает фосфорилирование серина IRS-1, тем самым нарушая передачу сигналов инсулина через путь PI-3K/Akt. Хотя адипонектин и грелин стимулируют продукцию NO через сигнальные пути PI-3K/Akt и повышают биодоступность NO, известно, что уровень этих цитокинов снижаются у пациентов с ожирением или СД2 [91].

ЭР-стресс также вносит вклад в формирование инсулинорезистентности сосудов и эндотелиальной дисфункции у пациентов с СД. ЭР-стресс, как уже было сказано выше, активирует клеточный ответ на несвернутые белки, который инициируется активацией 3 трансмембранных белков: (1) РНК-зависимой протеинкиназа-подобной ЭР киназы эукариотического фактора инициации-2а (PERK); (2) инозитол-требующий сигнальный белок 1 ЭР-к-ядру (IRE1 $\alpha$ ); и (3) активацией фактора транскрипции 6 (ATF6) [38]. Хроническая активация ответа на несвернутый белок способствует усилению окислительного стресса и воспаления и часто приводит к гибели эндотелиальных клеток [43]. Новые доклинические и клинические данные подтверждают мнение о том, что фармакологические модуляторы ЭР-стресса обладают терапевтическим потенциалом в качестве новых методов лечения метаболических заболеваний. Так, нативный человеческий GLP-1 улучшает эндотелий-зависимый кровоток у здоровых людей и снижает эндотелиальную дисфункцию у людей с СД2 и стабильной коронарной болезнью сердца, предполагая тем самым, что эндотелиопротективные эффекты нативного и синтетического GLP-1 могут опосредоваться воздействием на ЭР-стресс. Экспериментальные исследования показали, что агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), лираглутид, подавляет активацию ответа на несвернутый белок, вызванную высоким уровнем глюкозы, и ЭР-стресс в культивируемых эндотелиальных клетках [81]. Кроме того, лираглутид улучшает сердечно-сосудистую функцию на животных моделях [10]. Экспериментальные исследе-

дования показали, что агонисты GLP-1 обладают противовоспалительным действием на эндотелиальные клетки. Лечение агонистом рецептора GLP-1 лираглутидом ингибировало фактор некроза опухоли- $\alpha$ , молекулу внутриклеточной адгезии-1 и молекулу адгезии сосудистых клеток-1 в эндотелиальных клетках человека [57].

В исследовании Bretón-Romeo с соавт. показано, что лираглутид снижает активацию острого ЭР-стресса и фосфорилирование JNK в эндотелиальных клетках, недавно выделенных от пациентов с СД2. Предыдущее исследование у пациентов с СД показало тенденцию к лираглутид-опосредованной эндотелий-зависимой вазодилатации [67]. Лираглутид может восстанавливать действие инсулина в эндотелии пациентов с СД2. Более того, положительный эффект на сосудистую сеть опосредуется действием на рецептор GLP-1 [14].

### РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В РАЗВИТИИ ОЖИРЕНИЯ И ДИАБЕТА

Основной причиной ожирения является энергетический дисбаланс – несоответствие между количеством потребляемых калорий и калорий, затрачиваемых на основную и общий обмен. Многие “косвенные” причины ожирения, такие как окружающая среда, род занятий и социальные факторы, чрезвычайно трудно измерить или модифицировать. Молекулярные процессы и пути, которые непосредственно регулируют энергетический обмен или потребление калорий являются более подходящими целями для терапии, чем попытка изменения образа жизни. В частности, накапливается все больше подтверждений, что NO является центральным регулятором энергетического обмена. Биодоступность NO снижается при моделировании ожирения у животных высококалорийной диетой, а также у пациентов с ожирением и инсулинорезистентностью. Снижение биодоступности NO отмечено при ожирении и СД2 в исследованиях на животных и у людей и является основным механизмом резистентности сосудов к инсулину, а также является независимым предиктором впервые возникшего СД2, атеросклероза и гипертонии. Снижение экспрессии или активности NOS (снижение синтеза NO) и утилизации NO (усиление окисления NO) являются причинами уменьшения биодоступности NO. Кроме того, снижение доступности и транспорта L-аргинина, разобщение NOS, повышение активности аргиназы и повышенное содержание асимметричного диметил-L-аргинина (ADMA) снижает выработку NO. Разрабатываемые препараты, ингибирующие димеризацию iNOS, в экспериментальных исследованиях улучшают выживаемость и функциональное состояние  $\beta$ -клеток при СД [104].

Риск возникновения различных заболеваний, в том числе и метаболических нарушений увеличивается с возрастом. Недавние исследования взаимосвязи состояния NO-ергической системы с возрастом показали, что активация iNOS и увеличение продукции NO могут быть ответственны за повреждения  $\beta$ -клеток, усиление их апоптоза и гибели, что влечет за собой снижение секреции инсулина при старении.

Предполагается, что продукция NO посредством iNOS усиливается у старых крыс и отвечает за снижение секреции инсулина и устраняется неселективным ингибитором NOS L-NAME. Активность индуцибельной NOS участвует в антипролиферативном/проапоптотическом эффекте провоспалительных цитокинов, которые вызывают разрушение островков и ингибируют секрецию инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы [26].

### *Дисбаланс эндотелиальной и индуцируемой синтаз оксида азота при ожирении*

В жировой ткани eNOS была обнаружена в адипоцитах, а iNOS в основном продуцируется провоспалительными макрофагами. При ожирении экспрессия и активность eNOS в жировой ткани и скелетных мышцах ниже, что может происходить за счет нарушения фосфорилирования eNOS по серину 1177. Повышение уровня СЖК при ожирении и СД2 активирует Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) или TLR2 и NF $\kappa$ B, снижая PI3K-Akt-опосредованное фосфорилирование eNOS и тем самым уменьшая ее активность. Высокий уровень АФК, который наблюдается при ожирении и СД2 [6], ингибирует путь PI3K/Akt/eNOS и фосфорилирование eNOS, что приводит к снижению продукции и биодоступности NO. Гипергликемия также вызывает модификацию N-ацетилглюкозамина eNOS и снижает ее активность. У женщин с ожирением и/или СД2 экспрессия мРНК кавеолина-1 выше как в висцеральной, так и в подкожной жировой ткани, что является другим механизмом снижения продукции NO, синтезируемой eNOS. Кавеолы, небольшие инвагинации в плазматической мембране, особенно многочисленны в адипоцитах, биогенез которых происходит при участии кавеолина-1, непосредственно связывающегося с eNOS и ингибируя продукцию NO [13], а также и из-за высокой уровней церамида, разрушающего комплекс eNOS/Akt/HSP-90 [27].

Повышенная экспрессия iNOS при ожирении и СД2 отмечена в адипоцитах и  $\beta$ -клетках поджелудочной железы животных с ожирением, мРНК iNOS у крыс с диабетом в 20 раз выше, чем у интактных. Увеличение TNF- $\alpha$  активирует iNOS в адипоцитах, которая также участвует в развитии мышечной инсулинорезистентности при ожирении.

нии, отрицательно воздействуя на PI3K и Akt у мышей. При ожирении высокие уровни NO, из-за активности iNOS, вызывают S-нитрозилирование и, следовательно, активацию NFkB, что также снижает экспрессию eNOS. Повышенный уровень TNF- $\alpha$  при ожирении резко увеличивает активность eNOS за счет активации путей PI3K—Akt и сфингомилиназы/сфингозин-1-фосфата, но NO вызывает отрицательную обратную связь и снижают стабильность мРНК eNOS, частично за счет усиления фактора элонгации 1-a1 и снижения экспрессии eNOS.

Экспрессия и активность eNOS строго регулируются в жировой ткани и мышцах, и при возникновении энергодифицита eNOS необходима для активации SIRT1 — белка, участвующего в повышении чувствительности к инсулину и усилении активности eNOS [90]. У мышей, нокаутных по eNOS не было обнаружено положительных эффектов, индуцированных физической нагрузкой (плаванием), увеличения митохондриального биогенеза, количества копий митохондриальной ДНК и поглощения глюкозы подкожной жировой тканью, что наблюдалось у мышей дикого типа. Донор NO, DETA-NO, способствует митохондриальному биогенезу, поглощению глюкозы и увеличению плотности мембраны GLUT4 в культивируемых адипоцитах мыши и человека [95]. Эти результаты показывают, что физиологические уровни NO играют ключевую роль в поддержании здоровой метаболической функции жировой ткани.

Аргиназа — это фермент, который конкурирует с NOS за их общий субстрат, L-аргинин, снижение доступности которого нарушает продукцию NO. Несколько исследований на моделях ожирения, индуцированного высокожировой диетой, показали явное участие аргиназы в воспалительном процессе, протекающем в висцеральной жировой ткани или развитии эндотелиальной дисфункции. У мышей, которых содержали на диете с высоким содержанием жиров, в эндотелиальных клетках у которых уровень аргиназы-1 был низким, эндотелиальная дисфункция не развивалась, также не отмечали гипертонии, пониженного NO в сосудах, повышенных уровней АФК, воспаления жировой ткани, фиброза и снижения кровоснабжения [16].

NO, продуцируемый nNOS и eNOS в низких или умеренных концентрациях стимулирует окисление глюкозы и жирных кислот, подавляет синтез глюкозы, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности. Эти полезные эффекты связаны с усилением митохондриального биогенеза и окислительного фосфорилирования, а также с развитием бурой жировой ткани, которая, в отличие от белой, увеличивает чувствительность к инсулину и улучшает метаболизм глюкозы. Было

показано, что функция NOS в митохондриях, наряду с выработкой цитоплазматического NO, индуцирует митохондриальный биогенез. Несмотря на множество положительных эффектов NO при низких и умеренных концентрациях, высокие концентрации NO, генерируемые iNOS, являются цитотоксичными и являются предшественниками пероксинитритных и гидроксильных радикалов. В условиях низкой биодоступности L-аргина, таких как повышенная активность аргиназы, введение дополнительного L-аргина восстанавливает продукцию NO. У крыс линии Zucker с ожирением/диабетом пищевая добавка с L-аргином подавляла увеличение веса и другие признаки метаболического синдрома, одновременно повышая коэффициент респираторного обмена и теплопродукцию. У людей прием L-аргина улучшает чувствительности к инсулину у пациентов с метаболическим синдромом [9].

#### *Оксидативный стресс при ожирении и диабете*

Повышенная продукция АФК считается основным фактором развития и прогрессирования СД2. При ожирении и СД2 в значительной степени преобладают процессы разобщения eNOS вместо ее димеризации. Избыточное количество NO, продуцируемого iNOS, усиливает образование пероксинитрита, что увеличивает окислительное повреждение [60] и усиливает разобщение eNOS. Пероксинитрит может вызывать окисление, нитрование и S-нитрозилирование белков, липидов и ДНК. Ожирение и СД2 связаны со снижением ВН4 и увеличением ВН2 и, следовательно, с уменьшением отношения ВН4 к ВН2, которое нарушает работу eNOS и увеличивает выработку супероксида.

В жировой ткани макрофаги продуцируют как TNF- $\alpha$ , так и iNOS, оба из которых являются провоспалительными факторами и вносят вклад в развитие инсулинорезистентности, вызванной ожирением. Соотношение ксантиноксидазы (ХО) и ксантиндегидрогеназы (ХДН) определяет количество продуцируемых АФК, а пероксинитрит и TNF $\alpha$  стимулируют превращение ХДН в ХО, увеличивая соотношение ХО/ХДН. НАДФН-оксидаза (NOX), ХО, ферменты дыхательной цепи митохондрий и несвязанная eNOS продуцируют АФК. При СД2 протеинкиназа С также дополнительно активирует NOX в сосудистой стенке и генерирует супероксид-анион, который реагирует с NO и продуцирует пероксинитрит, а затем окисляет ВН4. Другим фактором, способствующим усилению окислительного стресса при ожирении и СД2, является гипоксия, которая индуцирует активность ХО, продукцию провоспалительных цитокинов, включая TNF- $\alpha$ , накопление макрофагов в жировой ткани, усиливает влияние TNF- $\alpha$  на индукцию экспрессии iNOS, снижает активность

каталазы и экспрессию гена глутатионпероксидазы [37].

### *Роль воспаления в формировании ожирения и диабета*

Ожирение и СД2 связаны с хроническим воспалением. В то время как нормальные адипоциты производят лептин и адипонектин, которые увеличивают чувствительность к инсулину, гипертрофированные секретируют моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 (MCP-1) и TNF- $\alpha$ , ответственные за инсулинорезистентность. Хроническое воспаление при СД2 приводит к увеличению воспалительных факторов, которые активируют переносчик катионных аминокислот (CAT-2) и подавляют переносчики аргинина CAT-1, которые увеличивают доступность L-аргинина для iNOS и уменьшают ее для eNOS.

В определенных условиях eNOS может индуцировать избыточную продукцию NO, опосредующего токсические эффекты. В исследовании Guo с соавт. был определен сигнальный путь PPAR $\gamma$ /eNOS, следуя которому NO может регулировать воспаление при СД2. PPAR $\gamma$  принадлежит к семейству ядерных рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом, которые регулируют экспрессию нескольких генов, участвующих в регуляции метаболизма липидов/глюкозы/аминокислот, пролиферации/дифференцировки клеток и воспаления, что позволяет предположить, что он может играть важную роль во многих патологических процессах [61]. Концентрация воспалительных факторов (С-реактивный белок, гептоглобин, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) была значительно увеличена в клетках линии HepG2 после обработки донатором NO. Напротив, обработка клеток данной линии поглотителем NO обнаружила снижение уровня воспалительных факторов. Таким образом, избыточные количества NO могут принимать участие в воспалительном процессе у пациентов с СД2. Согласно представлениям Singh с соавт., PPAR $\gamma$  способствует экспрессии eNOS [86], которая индуцирует продукцию NO. Ингибирование экспрессии PPAR $\gamma$  в клеточной линии HepG2 значительно снижало уровни eNOS и NO, а также уровни С-реактивного белка, гаптоглобина, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и IL-6. Следовательно, воспалительный процесс при метаболических нарушениях, вызванных СД2 может регулироваться посредством продукции NO, опосредованной путем PPAR $\gamma$ /eNOS [37].

### *Развитие гипоксии при ожирении и СД*

У гипертрофированных адипоцитов нарушена метаболическая функция, поскольку их диаметр составляет более 150–200 мкм, тогда как нормальное расстояние диффузии кислорода составляет

100–200 мкм; кроме того, по сравнению с худыми людьми, васкуляризация жировой ткани при ожирении снижается. У людей, не страдающих ожирением, кровотоков к жировой ткани увеличивается после еды, в то время как при ожирении происходит обратная ситуация. Концентрация кислорода низкая в белой жировой ткани как людей, так и животных с ожирением. Парциальное давление кислорода (pO $_2$ ) в белой жировой ткани мышцей с ожирением в три раза ниже, чем у животных с нормальной массой тела (15.2 мм рт. ст. против 48.0 мм рт. ст.) [12].

Доказательство роли гипоксии в жировой ткани отмечено у людей. Так, нормальное внутрибрюшное давление у человека составляет приблизительно 7 мм рт. ст. и увеличивается до 18 мм рт. ст. при патологическом ожирении, что может снизить приток крови к жировой ткани и привести к гипоксии адипоцитов. Гипоксия индуцирует выработку провоспалительных цитокинов, включая TNF, IL-6, MCP-1, подавляет экспрессию и секрецию адипонектина, который является сенситизатором инсулина [94]. Незначительное хроническое воспаление жировой ткани при ожирении также может вызывать гипоксию, что дает положительную обратную связь [12]. Гипоксия связана с накоплением макрофагов в жировой ткани, обеспечивая связь между гипоксией и воспалением. Окислительный и ЭР-стресс являются одними из основных механизмов развития воспаления при гипоксии [94], которое индуцирует активность XO, а также стимулирует экспрессию XOR. Низкое давление O $_2$  снижает экспрессию генов митохондриального разобщающего белка-2 (UCP-2), каталазы, рецептора, активирующего пролиферацию пероксисом (PPARg), коактиватора PPARg-1a (PГЦ-1a) и глутатионпероксидазы, тогда как оно увеличивает экспрессию лептина, апелина и висфатина [94]. Для правильного функционирования NOS необходимы физиологические концентрации кислорода, тогда как гипоксия снижает активность eNOS и продукцию NO, а также усиливает эффект TNF- $\alpha$  по индукции экспрессии iNOS как в белых, так и в бурых адипоцитах [68]. NO действует как посредник адаптации к хронической гипоксии, при этом более высокие уровни циркулирующего NO отмечены у жителей низменности, акклиматизировавшихся на больших высотах. Методы, улучшающие васкуляризацию жировой ткани оправданы для уменьшения ее гипоксии. При гипоксии и доступности нитрита образование NO увеличивается; это снижает потребление кислорода и потенциал внутренней митохондриальной мембраны, что приводит к снижению выработки АТФ [31].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Система оксида азота присутствует в организме повсеместно, поэтому модуляция NO-ергической системы может не только улучшить эндотелиальную функцию при СД2, но и непосредственно выступать самостоятельным терапевтическим подходом к лечению диабета.

Воздействие на NO-ергическую систему может улучшить эффективность уже имеющейся терапии, поскольку принимает непосредственное участие в углеводном обмене, а именно функционировании  $\beta$ -клеток, взаимодействии инсулина с клетками-мишенями и центральной регуляции метаболических процессов. Более очевидной роль NO-ергической системы становится при развитии патологических состояний на разных уровнях нарушений углеводного обмена: синтез и секреция инсулина, чувствительность к нему в тканях-мишенях, смещение баланса провоспалительных и противовоспалительных факторов в  $\beta$ -клетках и жировой ткани. Некоторые недостаточно изученные точки взаимодействия и противоречия в существующей литературе еще не дают полного понимания роли NO-ергической системы в развитии нарушений углеводного обмена, но ее вовлеченность в патофизиологию СД2 не вызывает сомнений. Поиск фармакологических средств, влияющих на функционирование NO-ергической системы, может стать перспективным подходом в качестве разработки мишени для фармакологического воздействия с целью повышения эффективности лечения СД.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана РНФ (проект № 20-75-10013).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майорова А.Ю. и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом (9-й выпуск) // Сахарный диабет. 2019. Т. 22. № 1. С. 1–121.
2. Дзукоев С.Г., Дзукоева Ф.С., Метельская В.А. Роль оксида азота в формировании эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2010. Т. 9. № 8. С. 63–68.
3. Галстян Г.Р., Каратаева Е.А., Юдович Е.А. Эволюция агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида-1 в терапии сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. 2017. Т. 20. № 4.
4. Пожилова Е.В., Новиков В.Е., Левченкова О.С. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2015. № 2.
5. Adela R., Nethi S.K., Bagul P.K. et al. Hyperglycaemia enhances nitric oxide production in diabetes: a study from South Indian patients // PLoS One. 2015. V. 10. № 4. P. 125270.
6. Al-Suhaimi E.A., Shehzad A. Leptin, resistin and visfatin: the missing link between endocrine metabolic disorders and immunity // Eur. J. Med. Res. 2013. V. 18. № 1. P. 12.
7. Anggård E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine // Lancet. 1994. V. 343. № 8907. P. 1199–206.
8. Assmann T.S., Brondani L.A., Bouças A.P. et al. Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis // Nitric Oxide. 2016. V. 61. P. 1–9.
9. Atawia R.T., Bunch K.L., Toque H.A. et al. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions // Front. Biosci. 2019. V. 24. P. 890–934.
10. Ban K., Noyan-Ashraf M.H., Hofer J. et al. Cardio-protective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways // Circulation. 2008. V. 117. P. 2340–2350.
11. Battelli M.G., Polito L., Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase in atherosclerosis pathogenesis: not only oxidative stress // Atherosclerosis. 2014. V. 237. № 2. P. 562–567.
12. Bhattacharya I., Dominguez A.P., Dragert K. et al. Hypoxia potentiates tumor necrosis factor- $\alpha$  induced expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in white and brown adipocytes // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2015. V. 461. № 2. P. 287–292.
13. Blaslov K., Bulum T., Duvnjak L. The role of endothelial dysfunction driven by adipocytokines in the development and progression of microvascular complications in patients with type 1 and type 2 diabetes // Med. Hypotheses. 2015. V. 84. № 6. P. 593–595.
14. Bretón-Romero R., Weisbrod R.M., Feng B. et al. Liraglutide Treatment Reduces Endothelial Endoplasmic Reticulum Stress and Insulin Resistance in Patients With Diabetes Mellitus // J. Am. Heart. Assoc. 2018. V. 7. № 18. P. 009379.
15. Cai D. Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases // Trends Endocrinol. Metab. 2013. V. 24. № 1. P. 40–47.
16. Caldwell R.W., Rodriguez P.C., Toque H.A. et al. Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease // Physiol. Rev. 2018. V. 98. № 2. P. 641–665.
17. Campbell S.C., Richardson H., Ferris W.F. et al. Nitric oxide stimulates insulin gene transcription in pancreatic beta-cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2007. V. 353. P. 1011–1016.
18. Carvalho-Filho M.A., Ueno M., Hirabara S.M. et al. S-nitrosation of the insulin receptor, insulin receptor substrate 1, and protein kinase B/Akt: a novel mechanism of insulin resistance // Diabetes. 2005. V. 54. № 4. P. 959–967.
19. Cha H.N., Kim Y.W., Kim J.Y. et al. Lack of inducible nitric oxide synthase does not prevent aging-associated insulin resistance // Exp. Gerontol. 2010. V. 45. № 9. P. 711–718.
20. Charbonneau A., Marette A. Inducible nitric oxide synthase induction underlies lipid-induced hepatic insulin resistance in mice: potential role of tyrosine nitration of insulin signaling proteins // Diabetes. 2010. V. 59. № 4. P. 861–871.

21. *Dai C., Brissova M., Reinert R.B. et al.* Pancreatic islet vasculature adapts to insulin resistance through dilation and not angiogenesis // *Diabetes*. 2013. V. 62. P. 4144–4153.
22. *DeFronzo R.A., Fleming G. A., Chen K. et al.* Metformin-associated lactic acidosis: Current perspectives on causes and risk // *Metabolism*. 2016. V. 65. № 2. P. 20–29.
23. *Denninger J.W., Marletta M.A.* Guanylate cyclase and the  $\cdot\text{NO}/\text{cGMP}$  signaling pathway // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999 V. 1411. № 2–3. P. 334–50.
24. *Donkelaar, D.H.J. ten.* Clinical Neuroanatomy: Brain Circuitry and Its Disorders. Springer International Publishing, 2020. 981 p.
25. *Eckersten D., Henningsson R.* Nitric oxide (NO) – production and regulation of insulin secretion in islets of freely fed and fasted mice // *Regul. Peptides*. 2012. V. 174. P. 32–37.
26. *Farrokhfall K., Hashtroudi M.S., Ghasemi A. et al.* Comparison of inducible nitric oxide synthase activity in pancreatic islets of young and aged rats // *Iran J. Basic Med. Sci*. 2015. V. 18. № 2. P. 115–121.
27. *Förstermann U., Sessa W.C.* Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur. Heart J*. 2011. V. 33. № 7. P. 829–837.
28. *Foster M.W., Hess D.T., Stamler J.S.* Protein S-nitrosylation in health and disease: a current perspective // *Trends Mol. Med*. 2009. V. 15. № 9. P. 391–404.
29. *Fujimoto M., Shimizu N., Kunii K. et al.* A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice // *Diabetes*. 2005. V. 54. № 5. P. 1340–1348.
30. *Gaisano H.Y.* Recent new insights into the role of SNARE and associated proteins in insulin granule exocytosis // *Diabetes Obesity Metab*. 2017. V. 19. № 1. P. 115–123.
31. *Ghasemi A., Jeddi S.* Anti-obesity and anti-diabetic effects of nitrate and nitrite // *Nitric Oxide*. 2017. V. 70. P. 9–24.
32. *Gheibi S., Bakhtiarzadeh F., Jeddi S.* Nitrite increases glucose-stimulated insulin secretion and islet insulin content in obese type 2 diabetic male rats // *Nitric Oxide*. 2017. V. 64. P. 39–51.
33. *Gheibi S., Ghasemi A.* Insulin secretion: The nitric oxide controversy // *EXCLI J*. 2020. V. 19. P. 1227–1245.
34. *Gheibi S., Jeddi S., Kashfi K. et al.* Regulation of vascular tone homeostasis by NO and H<sub>2</sub>S: Implications in hypertension // *Biochem. Pharmacol*. 2018. V. 149. P. 42–59.
35. *Gotoh T., Mori M.* Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2006. V. 26. № 7. P. 1439–1446.
36. *Grillo C.A., Tamashiro K.L., Piroli G.G. et al.* Lentivirus-mediated downregulation of hypothalamic insulin receptor expression // *Physiol. Behav*. 2007. V. 92. № 4. P. 691–701.
37. *Guo H., Zhang Q., Yuan H. et al.* Nitric Oxide Mediates Inflammation in Type II Diabetes Mellitus through the PPAR $\gamma$ /eNOS Signaling Pathway // *PPAR Res*. 2020. V. 2020. P. 8889612.
38. *Harding H.P., Zhang Y., Ron D.* Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase // *Nature*. 1999. V. 397. P. 271–274.
39. *Henningsson R., Salehi A., Lundquist I.* Role of nitric oxide synthase isoforms in glucose-stimulated insulin release // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*. 2002. V. 283. P. 296–304.
40. *Hoeldtke R.D., Bryner K.D., McNeill D.R. et al.* Oxidative stress and insulin requirements in patients with recent-onset type 1 diabetes // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2003. V. 88. № 4. P. 1624–1628.
41. *Horst B.G., Marletta M.A.* Physiological activation and deactivation of soluble guanylate cyclase // *Nitric Oxide*. 2018. V. 77. P. 65–74.
42. *Hotamisligil G.S.* Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease // *Cell*. 2010. V. 140. № 6. P. 900–917.
43. *Hummasti S., Hotamisligil G.S.* Endoplasmic reticulum stress and inflammation in obesity and diabetes // *Circ. Res*. 2010. V. 107. P. 579–591.
44. *Ishikawa T., Kaneko Y., Sugino F. et al.* Two distinct effects of cGMP on cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration of rat pancreatic beta-cells // *J. Pharmacol. Sci*. 2003. V. 91. P. 41–46.
45. *Jansson L., Hellerstrom C.* Stimulation by glucose of the blood flow to the pancreatic islets of the rat // *Diabetologia*. 1983. V. 25. P. 45–50.
46. *Jewell J.L., Oh E., Thurmond D.C.* Exocytosis mechanisms underlying insulin release and glucose uptake: conserved roles for Munc18c and syntaxin 4 // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol*. 2010. V. 298. P. 517–R531.
47. *Kaneko Y., Ishikawa T., Amano S. et al.* Dual effect of nitric oxide on cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration and insulin secretion in rat pancreatic beta-cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2003. V. 284. P. 1215–1222.
48. *Katashima C.K., Silva V.R.R., Lenhare L. et al.* iNOS promotes hypothalamic insulin resistance associated with deregulation of energy balance and obesity in rodents // *Sci. Rep*. 2017. V. 7. P. 9265.
49. *Kubota T., Kubota N., Kumagai H. et al.* Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle // *Cell. Metab*. 2011. V. 13. P. 294–307.
50. *Laffranchi R., Gogvadze V., Richter C. et al.* Nitric oxide (nitrogen monoxide, NO) stimulates insulin secretion by inducing calcium release from mitochondria // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1995. V. 217. P. 584–591.
51. *Lajoix A.D., Reggio H., Chardes T. et al.* A neuronal isoform of nitric oxide synthase expressed in pancreatic beta-cells controls insulin secretion // *Diabetes*. 2001. V. 50. P. 1311–1323.
52. *Lancaster J.R.* Chapter 1—A Concise History of the Discovery of Mammalian Nitric Oxide (Nitrogen Monoxide) Biogenesis // *Nitric Oxide Academic Press*. 2017. P. 1–7.
53. *Lazo-de-la-Vega-Monroy M.L., Vilches-Flores A.* The role of NO-cGMP signaling pathway in pancreatic beta-cell function // *Immunol. Endocr. Metab. Agents. Med. Chem*. 2014. V. 14. P. 8–14.

54. Lee J., Ozcan U. Unfolded protein response signaling and metabolic diseases // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 3. P. 1203–1211.
55. Levine A.B., Punahaole D., Levine T.B. Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications // *Cardiology.* 2012. V. 122. P. 55–68.
56. Li J., Tang Y., Cai D. IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B disrupts adult hypothalamic neural stem cells to mediate a neurodegenerative mechanism of dietary obesity and pre-diabetes // *Nat. Cell. Biol.* 2012. V. 14. № 10. P. 999–1012.
57. Liu H., Dear A.E., Knudsen L.B. A long-acting glucagon-like peptide-1 analogue attenuates induction of plasminogen activator inhibitor type-1 and vascular adhesion molecules // *J. Endocrinol.* 2009. V. 201. P. 59–66.
58. Luiking Y.C., Engelen M.P., Deutz N.E. Regulation of nitric oxide production in health and disease // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2010. V. 13. № 1. P. 97–104.
59. Lv W. Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides // *Curr. Top. Med. Chem.* 2020. V. 20. № 1. P. 37–56.
60. Martyn J.A., Kaneki M., Yasuhara S. Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms // *Anesthesiology.* 2008. V. 109. № 1. P. 137–148.
61. Mastrofrancesco A., Ottaviani M., Cardinali G. et al. Pharmacological PPAR $\gamma$  modulation regulates sebogenesis and inflammation in SZ95 human sebocytes // *Biochem. Pharmacol.* 2017. V. 138. P. 96–106.
62. Matsuura N., Ishikawa T., Abe S. et al. Nitric oxide-cyclic GMP system potentiates glucose-induced rise in cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration in rat pancreatic beta-cells // *Life Sci.* 1999. V. 65. P. 1515–1522.
63. Meffert M.K., Calakos N.C., Scheller R.H. et al. Nitric oxide modulates synaptic vesicle docking/fusion reactions // *Neuron.* 1996. V. 16. P. 1229–1236.
64. Mezghenna K., Pomies P., Chalancon A. et al. Increased neuronal nitric oxide synthase dimerisation is involved in rat and human pancreatic beta cell hyperactivity in obesity // *Diabetologia.* 2011. V. 54. P. 2856–2866.
65. Mosén H., Salehi A., Henningsson R. et al. Nitric oxide inhibits, and carbon monoxide activates, islet acid alpha-glucosidase hydrolase activities in parallel with glucose-stimulated insulin secretion // *J. Endocrinol.* 2006. V. 190. № 3. P. 681–693.
66. Nakada S., Ishikawa T., Yamamoto Y. et al. Constitutive nitric oxide synthases in rat pancreatic islets: direct imaging of glucose-induced nitric oxide production in beta-cells // *Pflugers. Arch.* 2003. V. 447. P. 305–311.
67. Nandy D., Johnson C., Basu R. et al. The effect of liraglutide on endothelial function in patients with type 2 diabetes // *Diab. Vasc. Dis. Res.* 2014. V. 11. P. 419–430.
68. Norouzirad R., Gonzalez-Muniesa P., Ghasemi A. Hypoxia in obesity and diabetes: potential therapeutic effects of hyperoxia and nitrate // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. V. 2017. № 5350267.
69. Nunemaker C.S., Buerk D.G., Zhang M. et al. Glucose-induced release of nitric oxide from mouse pancreatic islets as detected with nitric oxide-selective glass microelectrodes // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007. V. 292. P. 907–912.
70. Nystrom T., Ortsater H., Huang Z. et al. Inorganic nitrite stimulates pancreatic islet blood flow and insulin secretion // *Free Radic. Biol. Med.* 2012. V. 53. P. 1017–1023.
71. Oleson B.J., Broniowska K.A., Naatz A., et al. Nitric Oxide Suppresses  $\beta$ -Cell Apoptosis by Inhibiting the DNA Damage Response // *Mol. Cell Biol.* 2016. V. 36. № 15. P. 2067–2077.
72. Palmer Z.J., Duncan R.R., Johnson J.R. et al. S-nitrosylation of syntaxin 1 at Cys(145) is a regulatory switch controlling Munc18-1 binding // *Biochem. J.* 2008. V. 413. P. 479–491.
73. Park S.W., Ozcan U. Potential for therapeutic manipulation of the UPR in disease // *Semin. Immunopathol.* 2013. V. 35. № 3. P. 351–373.
74. Perreault M., Marette A. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against obesity-linked insulin resistance in muscle // *Nat Med.* 2001. V. 7. № 10. P. 1138–1143.
75. Rizzo M.A., Piston D.W. Regulation of beta cell glucokinase by S-nitrosylation and association with nitric oxide synthase // *J. Cell. Biol.* 2003. V. 161. P. 243–248.
76. Ron D., Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007. V. 8. № 7. P. 519–529.
77. Ropelle E.R., Pauli J.R., Cintra D.E. et al. Targeted disruption of inducible nitric oxide synthase protects against aging, S-nitrosation, and insulin resistance in muscle of male mice // *Diabetes.* 2013. V. 62. № 2. P. 466–470.
78. Salvemini D., Kim S.F., Mollace V. Reciprocal regulation of the nitric oxide and cyclooxygenase pathway in pathophysiology: relevance and clinical implications // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013. V. 304. № 7. P. 473–487.
79. Sansbury B.E., Cummins T.D., Tang Y. et al. Overexpression of endothelial nitric oxide synthase prevents diet-induced obesity and regulates adipocyte phenotype // *Circ. Res.* 2012. V. 111. № 9. P. 1176–1189.
80. Sansbury B.E., Hill B.G. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide // *Free Radic. Biol. Med.* 2014. V. 73. P. 383–399.
81. Schisano B., Harte A.L., Lois K. et al. GLP-1 analogue, liraglutide protects human umbilical vein endothelial cells against high glucose induced endoplasmic reticulum stress // *Regul. Pept.* 2012. V. 174. P. 46–52.
82. Schweizer M., Richter C. Nitric oxide potently and reversibly deenergizes mitochondria at low oxygen tension // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 204. P. 169–175.
83. Seckinger K.M., Rao V.P., Snell N.E. et al. Nitric oxide activates  $\beta$ -cell glucokinase by promoting formation of the “glucose-activated” state // *Biochemistry.* 2018. V. 57. P. 5136–5144.
84. Shahid S.M., Mahboob T. Correlation between glycosylated hemoglobin (HbA1c) and serum nitrite oxide (NO) // *Aust. J. Basic. Appl. Sci.* 2009. V. 3. P. 1323–1327.
85. Shankar R.R., Wu Y., Shen H.Q. et al. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance // *Diabetes.* 2000. V. 49. № 5. P. 684687.

86. Singh A. P., Singh N., Pathak D. et al. Estradiol attenuates ischemia reperfusion-induced acute kidney injury through PPAR- $\gamma$  stimulated eNOS activation in rats // *Mol. Cell Biochem.* 2019. V. 453. № 1–2. P. 1–9.
87. Smukler S.R., Tang L., Wheeler M.B. et al. Exogenous nitric oxide and endogenous glucose-stimulated beta-cell nitric oxide augment insulin release // *Diabetes.* 2002. V. 51. P. 3450–3460.
88. Spinass G.A., Laffranchi R., Francoys I. et al. The early phase of glucose-stimulated insulin secretion requires nitric oxide // *Diabetologia.* 1998. V. 41. P. 292–299.
89. Stuart-Smith K. Demystified. Nitric oxide // *Mol. Pathol.* 2002. V. 55. № 6. P. 360–366.
90. Sun C., Zhang F., Ge X. et al. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B // *Cell. Metab.* 2007. V. 6. № 4. P. 307–319.
91. Takeda Y., Matoba K., Sekiguchi K. et al. Endothelial Dysfunction in Diabetes // *Biomedicines.* 2020. V. 8. № 7. P. 182.
92. Tejedo J.R., Ramirez R., Cahuana G.M. et al. Evidence for involvement of c-Src in the anti-apoptotic action of nitric oxide in serum-deprived RINm5F cells // *Cell Signal.* 2001. V. 13. P. 809–817.
93. Tejero J., Shiva S., Gladwin M.T. Sources of Vascular Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species and Their Regulation // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99. № 1. P. 311–379.
94. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity // *Physiol. Rev.* 2013. V. 93. P. 21.
95. Trevellin E., Scorzetto M., Olivieri M. et al. Exercise training induces mitochondrial biogenesis and glucose uptake in subcutaneous adipose tissue through eNOS-dependent mechanisms // *Diabetes.* 2014. V. 63. № 8. P. 2800–2811.
96. Wang H., Wang A.X., Aylor K. et al. Nitric oxide directly promotes vascular endothelial insulin transport // *Diabetes.* 2013. V. 62. № 12. P. 4030–4042.
97. Wang H., Wang A.X., Liu Z. et al. Insulin signaling stimulates insulin transport by bovine aortic endothelial cells // *Diabetes.* 2008. V. 57. P. 540–547.
98. Willmott N.J., Galione A., Smith P.A. Nitric oxide induces intracellular  $Ca^{2+}$  mobilization and increases secretion of incorporated 5-hydroxytryptamine in rat pancreatic beta-cells // *FEBS Lett.* 1995. V. 371. P. 99–104.
99. Yasukawa T., Tokunaga E., Ota H. et al. S-nitrosylation-dependent inactivation of Akt/protein kinase B in insulin resistance // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 9. P. 7511–7518.
100. Yue J.T., Abraham M.A., LaPierre M.P. et al. A fatty acid-dependent hypothalamic-DVC neurocircuitry that regulates hepatic secretion of triglyceride-rich lipoproteins // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 5970.
101. Zannotto T.M., Quaresma P.G.F., Guadagnini D. et al. Blocking iNOS and endoplasmic reticulum stress synergistically improves insulin resistance in mice // *Mol. Metab.* 2016. V. 6. № 2. P. 206–218.
102. Zhang L., Wheatley C.M., Richards S.M. et al. TNF- $\alpha$  acutely inhibits vascular effects of physiological but not high insulin or contraction // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003. V. 285. P. 654–660.
103. Zhang X., Fu Y., Xu X. et al. PERK pathway are involved in NO-induced apoptosis in endothelial cells cocultured with RPE under high glucose conditions // *Nitric Oxide.* 2014. V. 40. P. 10–16.
104. Zhong L., Tran T., Baguley T.D. et al. A novel inhibitor of inducible NOS dimerization protects against cytokine-induced rat beta cell dysfunction. // *Br. J. Pharmacol.* 2018. V. 175. № 17. P. 3470–3485.

## The Role of the NO-Ergic System in the Regulation of Carbohydrate Metabolism and the Development of Diabetes Mellitus

D. V. Kurkin<sup>a, \*</sup>, E. E. Abrosimova<sup>a</sup>, D. A. Bakulin<sup>a</sup>, N. S. Kovalev<sup>a</sup>, M. A. Dubrovina<sup>a</sup>, A. V. Borisov<sup>b</sup>, V. I. Petrov<sup>a</sup>, and I. N. Tyurenkov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia

<sup>b</sup> Volgograd Medical Research Center, Volgograd, 400131 Russia

\*e-mail: strannik986@mail.ru

**Abstract**—Nitric oxide acts as a regulatory molecule that is universal for most organs and tissues of the body. The role of this molecule in the regulation of carbohydrate metabolism has been determined, and disturbances in the work of the NO-ergic system often precede the development of many pathologies, including diabetes mellitus. This review analyzes current data on the NO-ergic system in general and, mainly, on the role of nitric oxide in the regulation of carbohydrate metabolism in health and disease.

**Keywords:** nitric oxide, diabetes mellitus, insulin resistance, disorders of carbohydrate metabolism