

СОДЕРЖАНИЕ

Том 53, номер 3, 2022

Механизмы влияния цитокинового шторма на функцию внешнего дыхания <i>Н. П. Александрова</i>	3
Фактор, индуцируемый гипоксией и ингибиторы пролилгидроксилазы – новая фармакологическая мишень и класс лекарственных препаратов, стимулирующих эритропоэз и не только <i>Д. В. Куркин, Д. А. Бакулин, Е. Е. Абросимова, И. Н. Тюренков</i>	15
Орбитофронтальная кора в системе центрального управления автономными функциями <i>В. Г. Александров, Е. А. Губаревич, Т. Н. Кокурина, Г. И. Рыбакова, Т. С. Туманова</i>	45
Интероцепторы кишки в нейроиммунных взаимодействиях <i>О. Н. Платонова, Е. Ю. Быстрова, К. А. Дворникова, А. Д. Ноздрачев</i>	54
Вклад протеомики и метаболомики в исследование физиологических механизмов адаптации организма человека к условиям жизнедеятельности <i>И. М. Ларина, Л. Х. Пастушкова, Д. Н. Каширина, М. Г. Тюжсин</i>	75

Contents

Vol. 53, No. 3, 2022

Mechanisms of Influence of the Cytokine Storm on the Respiratory System <i>N. P. Aleksandrova</i>	3
Hif and Prolyl Hydroxylase Inhibitors – A New Pharmacological Target and A Medicinal Drugs Class Stimulating Not Only Erythropoiesis, But More <i>D. V. Kurkin, D. A. Bakulin, E. E. Abrosimova, I. N. Tyurenkov</i>	15
Orbitofrontal Cortex in the Central System of Autonomic Control <i>V. G. Aleksandrov, E. A. Gubarevich, T. N. Kokurina, G. I. Rybakova, T. S. Tumanova</i>	45
Intestinal Interoceptors in Neuroimmune Interactions <i>O. N. Platonova, E. Yu. Bystrova, K. A. Dvornikova, A. D. Nozdrachev</i>	54
The Contribution of Proteomics and Metabolomics to the Study of Physiological Mechanisms of Adaptation of the Human Body to Life Conditions <i>I. M. Larina, L. Kh. Pastushkova, D. N. Kashirina, M. G. Tyuzhin</i>	75

УДК 612.2+616.2

МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА НА ФУНКЦИЮ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ

© 2022 г. Н. П. Александрова*

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия***e-mail: aleks@infran.ru*

Поступила в редакцию 25.03.2022 г.

После доработки 27.03.2022 г.

Принята к публикации 30.03.2022 г.

В обзоре на основе современных экспериментальных и клинических данных рассматриваются последствия чрезмерного увеличения системного уровня провоспалительных цитокинов, так называемого цитокинового шторма, вызывающего развитие системного воспаления, характерного для тяжелого течения новой вирусной инфекции SARS COV-19. Обсуждаются физиологические механизмы влияния провоспалительных цитокинов на систему внешнего дыхания на тканевом, органном и системном уровнях. Приводятся собственные экспериментальные данные, согласно которым цитокиновый шторм может усиливать дисфункцию дыхательной системы посредством действия провоспалительных цитокинов на рефлекторные механизмы регуляции вентиляционной функции легких, ослабляя тем самым компенсаторные возможности системы внешнего дыхания. Подчеркивается, что проведение исследований в этом направлении открывает новые перспективы в изучении регуляторных процессов, происходящих в центральной нервной системе, способствует раскрытию тонких механизмов межсистемных взаимодействий, участвующих в центральной регуляции висцеральных функций.

Ключевые слова: цитокиновый шторм, провоспалительные цитокины, вентиляция легких, острый респираторный дистресс-синдром, рефлекторная регуляция дыхания, простагландины, оксид азота

DOI: 10.31857/S0301179822030043

ВВЕДЕНИЕ

Цитокины, эндогенные полипептиды, обладающие мощной плеiotропной (многофункциональной) активностью и выполняющие роль сигнальных молекул в межклеточных взаимодействиях, изначально рассматривались как медиаторы, обеспечивающие только локальное взаимодействие между клетками иммунной системы [9]. К настоящему времени установлено, что экспрессия цитокинов, а также и их рецепторов не ограничена клетками только иммунной системы. Они могут продуцироваться и во многих других органах и тканях. Кроме того, было установлено, что цитокины могут оказывать не только местное, паракринное или аутокринное, но и гормоноподобное действие, т.е. влиять на клетки-мишени, находящиеся в различных органах в отдалении от того места, где в данный момент они продуцируются, образуя, таким образом, в организме единую сигнальную сеть. Поэтому в настоящее время цитокины выделяются в самостоятельную систему регуляции защитных реакций организма и нормальных физиологических функций, тесно связанную с нервной и эндокринной системами регуляции [4].

Характерной чертой цитокинов является многофункциональность. Они действуют и на тканевом, и на системном уровне. Экспрессия провоспалительных цитокинов в очаге воспаления активирует лимфоциты, вызывает экспрессию молекул адгезии на эндотелиоцитах, увеличивая тем самым сосудистую проницаемость, активирует фагоциты, усиливает NO-синтазную активность и метаболизм арахидоновой кислоты, способствуя синтезу оксида азота и простагландинов. К системным эффектам цитокинов относится их действие на терморегуляторный центр гипоталамуса, вызывающее подъем температуры тела, влияние на синтез большинства гормонов, индукция в печени синтеза острофазовых белков и компонентов системы комплемента, влияние на кроветворную систему, вызывающее активацию гемопоэза, увеличение количества лейкоцитов за счет ускорения их выхода из костного мозга и депо, повышение свертываемости крови. Все эти биологические эффекты цитокинов имеют единую цель — они направлены на борьбу с патогеном и формирование единой защитной реакции организма, посредством осуществления связи между иммунной, нервной, эндокринной и кроветворной системами.

ми. Однако иммунный ответ не всегда бывает адекватным. Он может быть как недостаточным, так и гипертрофированным. В организме существуют эффективные механизмы, предотвращающие гиперпродукцию цитокинов: это экспрессия противовоспалительных цитокинов, связывающие цитокины белки плазмы крови, ингибиторы протеаз, растворимые рецепторы цитокинов, усиление синтеза стероидных гормонов [23, 83]. Несмотря на существование таких механизмов, в ряде случаев контроль оказывается недостаточно эффективным и уровни цитокинов достигают патологически высоких значений. Установлено, что неуправляемый и избыточный иммунный ответ, так называемый “цитокиновый шторм”, может причинить огромный вред организму человека [25, 35, 79].

Цитокиновый шторм или гиперцитокинемия – это потенциально летальная реакция иммунной системы, характеризующаяся быстрой пролиферацией и повышенной активностью Т-клеток, макрофагов и естественных киллеров с высвобождением защитными клетками различных воспалительных цитокинов и химических медиаторов [90]. Выработка большого количества медиаторов воспаления приводит к активации иммунных клеток и высвобождению последними новой порции медиаторов вследствие наличия неконтролируемой положительной обратной связи между этими процессами [19]. Возникает порочный круг, который вызывает разрушение тканей очага воспаления, распространение реакции на соседние ткани, выход провоспалительных цитокинов в кровеносное русло. Воспаление приобретает системный, генерализованный характер, охватывая весь организм в целом и вызывая полиорганное повреждение, ведущее к дыхательной, сердечной, печеночной и почечной недостаточности [28, 80, 82, 86].

Впервые термин “цитокиновый шторм” был введен в научный лексикон американским ученым Джеймсом Феррара в 1993 г. при описании реакции “трансплантат против хозяина”, которая является основным осложнением аллогенной трансплантации костного мозга [41]. В настоящее время исследование патофизиологических механизмов и последствий развития цитокинового шторма приобрело особую актуальность в связи с возникновением и широким распространением коронавирусной инфекции COVID-19. Установлено, что степень повреждения органов дыхания у больных COVID-19 зависит не столько от прямого действия вируса и интенсивности вирусной репродукции, сколько от неконтролируемой выработки провоспалительных цитокинов и развития системной воспалительной реакции. Именно с развитием цитокинового шторма связаны осложнения и летальные случаи этого заболевания [31, 60, 82]. На прямую корреляцию между

смертностью и уровнем гиперцитокинемии указывалось и в более ранних исследованиях при изучении патофизиологии тяжелых вирусных заболеваний и сепсиса [20, 24, 25, 30, 73, 90]. Этиологический фактор, запускающий каскады цитокинового шторма, пока не установлен. Существенную роль в этом плане может играть генетическая предрасположенность, а также состояние иммунной системы человека. Установлено, что при заболевании COVID-19 чрезмерная иммунная реакция на коронавирус, приводящая к цитокиновому шторму и, как следствие, к неблагоприятному исходу болезни, наблюдается чаще всего у пациентов пожилого возраста с ослабленным иммунитетом [78]. Цитокиновый шторм может быть вызван причинами не только инфекционного (вирусы, бактерии), но и неинфекционного характера (ожоги, панкреатит, онкология и лечение химиопрепаратами, проведение хирургических операций) [19, 84]. Следствием развития цитокинового шторма является поликлональная активация клеток иммунной системы, т.е. потеря специфичности иммунитета, когда уже не только чужеродные, но и собственные клетки организма хозяина связываются антигенами и уничтожаются в ходе дальнейшей реакции иммунного ответа.

Развитие цитокинового шторма происходит на фоне чрезмерной активации системы врожденного иммунитета. Клетками врожденного иммунитета, участвующими в патогенезе цитокинового шторма, являются нейтрофилы, макрофаги, Т-клетки и естественные киллеры. При усиленной активации эти клетки секретируют чрезмерное количество цитокинов, инициируя цитокиновый шторм, который сопровождается выбросом большого количества биологически активных веществ. В развитии цитокинового шторма принимают участие как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины различных семейств: интерлейкины (ИЛ), интерфероны (ИФН), хемокины, колонии стимулирующие факторы, факторы некроза опухоли (ФНО) [52, 83]. Однако ведущая роль в патогенезе цитокинового шторма принадлежит ИЛ-1 β , ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-6. При этом в индуцировании цитокинового шторма центральная, критическая роль отводится ИЛ-1, который рассматривается в качестве эффекторной молекулы [42]. С помощью метода полимеразной цепной реакции было, например, показано, что при гиперцитокинемии, характерной для реакции “трансплантат против хозяина”, уровень транскриптов мРНК ИЛ-1 увеличивается в несколько сотен раз, тогда как уровень транскриптов ФНО- α возрастает только в 4–6 раз [13]. Установлено, что при повреждении легких ИЛ-1 β является ключевым цитокином, управляющим провоспалительной активностью [31, 75]. ИЛ-1 β , экспрессируемый в ответ на проникновение в организм патогенов, антигенное раздражение или

повреждение тканей, вызывает экспрессию генов и синтез ФНО- α , ИЛ-6 и других провоспалительных цитокинов в макрофагах и тучных клетках. Этот эффект, сопровождающийся усилением синтеза оксида азота и провоспалительных продуктов метаболизма арахидоновой кислоты, таких как простагландины и тромбоксаны, способствует развитию цитокинового шторма.

ОСТРЫЙ РЕСПИРАТОРНЫЙ ДИСТРЕСС-СИНДРОМ (ОРДС) В ПАТОГЕНЕЗЕ ЦИТОКИНОВОГО ШТОРМА

Цитокиновый шторм имеет сложный патогенез, существенный вклад в который вносит гиперактивация системы комплемента, являющаяся важным компонентом как врожденного, так и приобретенного иммунитета. Система комплемента представляет собой группу защитных белков, которые постоянно присутствуют в крови и являются протеолитическими ферментами, способными нарушать целостность клеточной мембраны, вызывая этим гибель клетки [10]. Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α) могут увеличивать продукцию белков комплемента, вызывая слишком мощную активацию этой системы. В результате она начинает воздействовать не только на клетку-патоген, но и на собственные клетки организма: протеолитические ферменты повреждают ткани, разрушают эритроциты и тромбоциты.

Цитокиновый шторм имеет широкий спектр неблагоприятных последствий [82, 86, 28, 80]. Однако чаще всего и в наибольшей степени от неконтролируемого выброса цитокинов страдает дыхательная система. Иммунопатологические изменения в легких, вызванные цитокиновым штормом приводят к развитию острого респираторного дистресс синдрома [26, 51, 54, 60]. Синонимами ОРДС являются “шоковое”, “влажное”, “травматическое” легкое. ОРДС приводит к острой дыхательной недостаточности – патологическому состоянию, при котором не обеспечивается поддержание нормального газового состава крови либо оно достигается за счет более интенсивной работы аппарата внешнего дыхания, что приводит к снижению функциональных возможностей организма. Именно ОРДС является основной причиной смерти пациентов от коронавирусной инфекции SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 [36, 83].

Несмотря на многообразие факторов, приводящих к ОРДС, в его основе лежат повреждения легочных структур [12]. Появление провоспалительных цитокинов в кровеносном русле (ИЛ-8, ИЛ-1 β , ФНО- α), активирует нейтрофилы, кото-

рые мигрируют в просвет альвеол. В альвеолах активированные нейтрофилы секретируют множество деструктивных факторов (таких как лейкотриены, оксиданты, протеазы, фактор активации тромбоцитов), повреждающих альвеолярный эпителий. Повреждение эпителия альвеол вызывает выход фибрина и других белков в просвет альвеол, что способствует формированию в альвеолах гиалиновых мембран, состоящих из протеинов плазмы, остатков цитоплазмы и ядер слущенных клеток эпителия. Происходит утолщение аэрогеоматического барьера, затрудняется диффузия кислорода. Установлено, что экссудативное и диффузное повреждение альвеол является основной причиной тяжелой гипоксемии при COVID-19.

К основным морфологическим изменениям в легких при ОРДС относится также повреждение эндотелия легочных капилляров, их базальных мембран, увеличение проницаемости капилляров, что ведет к накоплению внесосудистой жидкости и экссудации белков с формированием некардиогенного отека легких [7]. В воздушное пространство альвеол поступает отечная жидкость, возникает дефицит сурфактанта, вызванный повреждением пневмоцитов II типа. Нарушение сурфактантного слоя, выстилающего бронхиолы и альвеолы, вызывает ателектаз, т.е. спадение альвеол. В результате часть легочного кровотока проходит по неventилируемым участкам легких, шунтируется. Венозная кровь, притекающая к легким и попадающая в шунты, не изменяет свой газовый состав. На выходе из легких она встречается с кровью, оттекающей от нормально работающих альвеол. В результате смешивания этих двух потоков образуется артериальная кровь, напряжение кислорода в которой снижено из-за примеси неоксигенированной крови.

Повышение проницаемости стенок легочных капилляров при цитокиновом шторме вызывает усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином в интерстициальную ткань легкого и развитие интерстициального отека легких. Выход фибрина в интерстиций способствует фиброзированию легочной ткани, снижению ее эластичности. Нормальная легочная ткань разрушается, а затем заменяется соединительной тканью. В результате в эластичной ткани образуются неэластичные участки, рубцы. Легкие становятся менее эластичными и менее растяжимыми, уменьшается функциональная емкость легких [22, 37]. Кроме того, заполнения альвеол жидкостью снижает воздушность легочной ткани. Все это увеличивает сопротивление дыханию и создает дополнительную нагрузку на дыхательные мышцы. В результате патологических изменений в легких, экссудативного и диффузного поврежде-

ния альвеол, инициируемых цитокиновым штормом, вызванным иммунной дисрегуляцией, теряется самое главное — диффузионная способность легких, ухудшается оксигенация крови, развивается гипоксемия и дыхательная недостаточность.

Гиперреакция иммунной системы приводит к истощению работы иммунитета. В результате возникает вторичная реакция — иммунная недостаточность. Иммуносупрессивное состояние способствует развитию оппортунистических бактериальных и микотических инфекций респираторного тракта, которые утяжеляют состояние больных коронавирусной инфекцией перенесших цитокиновый шторм [27].

ВЛИЯНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ НА РЕФЛЕКТОРНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ДЫХАНИЯ

К настоящему времени накоплен целый ряд экспериментальных фактов, указывающих на то, что влияние цитокинового шторма на систему внешнего дыхания не ограничивается морфологическими повреждениями легочных структур. Показано, что повышение системного уровня провоспалительных цитокинов влияет на рефлекторные механизмы регуляции дыхания [1, 2, 14, 15, 43, 55], снижает устойчивость организма к гипоксии [3], ухудшает способность к спонтанному восстановлению дыхания [48, 49].

Влияние провоспалительных цитокинов на артериальные и медуллярные хеморецепторы

Важнейшими элементами компенсаторных и адаптивных реакций системы внешнего дыхания являются гипоксический и гиперкапнический дыхательные хеморефлексы. Эти рефлексы участвуют в поддержании газового гомеостаза артериальной крови. Хеморефлексы осуществляются при участии хеморецепторов каротидных телец, расположенных в бифуркации сонной артерии, которые возбуждаются при снижении напряжения кислорода, повышении напряжения углекислого газа и уменьшении рН артериальной крови. При гипоксии гломусные клетки каротидных телец деполаризуются в ответ на недостаток кислорода и выделяют нейромедиаторы, которые активируют сенсорные нервные волокна, передающие афферентную информацию в дыхательный центр ствола мозга.

В настоящее время имеются данные об участии воспалительных цитокинов в физиологии и пластичности каротидного тела. Обнаружено, что циркулирующие цитокины могут влиять на артериальные хеморецепторы [74]. Как оказалось, си-

стемное воспаление, для которого характерна гиперцитокинемия, вызывает морфологические изменения в каротидных телецах, которые снижают их чувствительность к гипоксии [43, 55]. Установлено, что гломусные клетки каротидных телец постоянно экспрессируют рецепторы воспалительных цитокинов, включая рецепторы ФНО- α (ФНО-R1 и ФНО-R2), ИЛ-1 β (IL-1R1) и ИЛ-6 [43, 55, 87, 88]. Показано, что циркулирующие цитокины, и в частности ФНО- α , могут распознаваться этими мембранными рецепторами и провоцировать высвобождение гломусными клетками тормозного медиатора дофамина [40, 93]. В экспериментах, проведенных *in vitro* установлено, что в каротидном теле ФНО- α может уменьшать хемосенсорные разряды, вызванные гипоксией [40].

В совокупности, эти данные позволяют предполагать, что цитокиновый шторм может ослаблять функцию каротидных телец, снижая тем самым компенсаторную реакцию дыхательной системы на уменьшение напряжения кислорода в артериальной крови. Данные, полученные в нашей лаборатории, подтверждают это предположение, показывая, что повышение системного уровня ключевых провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , увеличивая вентиляцию легких при спокойном дыхании воздухом, в то же время снижает чувствительность респираторной системы к гипоксии ослабляя вентиляционный гипоксический ответ [16, 17].

Провоспалительные цитокины могут влиять не только на периферические, артериальные, но и на центральные, медуллярные хеморецепторы, роль которых выполняют хемочувствительные нейроны, расположенные на вентральной поверхности продолговатого мозга. Возбуждение медуллярных хеморецепторов, усиливающее инспираторную активность дыхательного центра, происходит при повышении концентрации ионов водорода во внеклеточной жидкости мозга, которое происходит при гиперкапнических изменениях в газовом составе артериальной крови. Сдвиг внутритканевого рН является наиболее выраженным фактором в механизме действия углекислоты на центральные хеморецепторы [6, 61]. При усилении эндогенной продукции ФНО- α было обнаружено снижение вентиляционной чувствительности к гиперкапнии [46]. Ослабление вентиляционного ответа на гиперкапнию наблюдается и после экзогенного повышения церебрального уровня ИЛ-1 β [14, 15]. Эти данные свидетельствуют о влиянии провоспалительных цитокинов на центральные механизмы регуляции дыхания. Возможность таких влияний определяется тем, что цитокины и их рецепторы

экспрессируются в большинстве областей мозга и участвуют в нейроиммунных взаимодействиях, оказывая прямое или опосредованное действие на клетки центральной нервной системы [8]. Иммуногистохимические исследования показали наличие экспрессии цитокинов и их рецепторов в ядре солитарного тракта и в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в респираторно зависимых районах ствола мозга [29, 33, 45, 72].

Экспериментальные факты, свидетельствующие о снижении вентиляционного ответа на изменение газового состава крови при повышении системного и церебрального уровня провоспалительных цитокинов, дают основание полагать, что цитокиновый шторм ослабляет компенсаторные возможности системы внешнего дыхания. Нарушение рефлекторных механизмов регуляции дыхания усугубляет ухудшение дыхательной функции, вызванное морфологическими повреждениями дыхательных путей, так как ослабление вентиляционного ответа на гипоксию и гиперкапнию препятствует восстановлению нормального газового состава артериальной крови.

Влияние провоспалительных цитокинов на бронхопультмональные сенсорные волокна

Рассматривая патофизиологические механизмы цитокинового шторма, следует также отметить способность цитокинов модулировать активность не только артериальных и медуллярных хеморецепторов, но и хемочувствительных рецепторов и ноцицепторов дыхательных путей, таких как быстроадаптирующиеся (ирритантные) рецепторы и рецепторы С-волокон (J-рецепторы). Быстро адаптирующиеся высокопороговые рецепторы представляют собой А δ -миелинизированные афферентные нервные волокна, идущие от немиелинизированных терминалей, локализованных на всем протяжении трахеобронхиального дерева. Легочные С-волокна являются капсаицин-чувствительными афферентными волокнами, имеющими функциональные связи с тучными клетками. Афферентная активность, возникающая в бронхопультмональных сенсорных терминалях проводится главным образом блуждающими нервными волокнами, которые проецируются на уровень продолговатого мозга в ядро одиночного тракта.

Высокопороговые рецепторы А δ имеют много общих характеристик с рецепторами С-волокон, включая хемочувствительность: и те, и другие стимулируются перекисью водорода, арахидоновой кислотой, провоспалительными цитокинами ФНО- α и ИЛ-1 β [59, 62, 92]. С другой стороны, нейропептиды, выделяющиеся из окон-

чаний С-волокон, могут воздействовать на иммунные клетки [11]. Недавние исследования показали, что чувствительность бронхолегочных С-волокон значительно повышена при воспалительных заболеваниях дыхательных путей [56].

Эти данные демонстрируют, что ноцицепторы дыхательных путей могут быть активированы провоспалительными цитокинами и подтверждают гипотезу о том, что бронхопультмональные сенсорные волокна передают иммунные сигналы из легких в головной мозг и осуществляют нейроиммунное взаимодействие между легкими и мозгом [58]. Известно, что стимуляция С-волокон при низком уровне интенсивности вызывает учащенное поверхностное дыхание, а при высокой интенсивности – апноэ, т.е. остановку дыхания. Наши данные показывают, что повышение системного уровня ИЛ-1 β или ФНО- α снижает возможность спонтанного восстановления дыхания после апноэ, вызванного гипоксическим воздействием, увеличивая летальность при тяжелой степени острой гипоксии [3]. Возможно, что в основе этих явлений наряду с другими механизмами лежит и усиленная активация легочных ноцицепторов провоспалительными цитокинами. Логично предположить, что этот механизм будет активирован и при цитокиновом шторме, что усугубит неблагоприятное действие гипоксии на организм и увеличит возможность неблагоприятного исхода.

Роль циклооксигеназных и NO-синтазных путей в механизмах влияния цитокинов на респираторную функцию

Влияние цитокинов на физиологические функции может быть опосредовано множественными путями, через высвобождение простаноидов, норэпинефрина, кортикотропинрилизинг фактора, оксида азота (NO) [47, 48, 69, 71, 89]. Вывод о том, что провоспалительные цитокины могут действовать на механизмы регуляции дыхания не прямо, а опосредовано подтверждается экспериментальными данными. Так, например, было показано, что системное введение ИЛ-1 β индуцирует экспрессию средне-раннего гена *c-fos* в ряде структур головного мозга, в том числе в ядре одиночного тракта, в латеральных парабрахсиальных ядрах, в вентролатеральном отделе продолговатого мозга, т.е. в тех областях, где расположены дыхательные нейроны [38]. При этом анализ распределения мРНК, кодирующей белок рецептора ИЛ-1 первого типа (IL-1R1) проведенный этими же исследователями не обнаружил мРНК IL-1R1 среди тех нейронов, которые отвечали на внутривенное введение ИЛ-1 β индукцией транскрипции

онного фактора *fos* [39]. Следовательно, нейроны, отвечающие на цитокиновый сигнал, не имели соответствующих рецепторов. Более того, в одной из работ было показано, что прямое действие ИЛ-1 β на структуры мозгового ствола *in vitro* не изменяет респираторно-зависимую нейрональную активность этого отдела мозга [71]. Эти данные доказывают, что действие ИЛ-1 β на центральные механизмы регуляции дыхания не может реализовываться через прямое влияние ИЛ-1 β на респираторные нейроны. Необходимы посредники, участвующие в передаче цитокинового сигнала.

Результаты экспериментальных исследований указывают на важную роль циклооксигеназных и NO-синтазных механизмов в путях проведения влияния провоспалительных цитокинов на рефлекторный контроль дыхания. Так, эксперименты с церебровентрикулярным и внутривенным введением ИЛ-1 β на фоне действия диклофенака показали, что данный препарат устраняет угнетающее влияние ИЛ-1 β и ФНО- α на гипоксический и гиперкапнический вентиляционные ответы [15–17]. В экспериментах на новорожденных крысах было показано, что ослабление дыхания после интраперитонеального введения ИЛ-1 β опосредовано простагландин-зависимыми путями [71]. Как известно, диклофенак является препаратом, угнетающим активность циклооксигеназы (COX), фермента необходимого для синтеза простагландинов из арахидоновой кислоты. ИЛ-1 β , взаимодействуя с рецептором интерлейкина-1 (ИЛ-1R1), индуцирует активность циклооксигеназы-2 (COX-2) и митохондриальной синтазы-1 простагландина E (mPGES-1). COX-2 катализирует образование простагландина H₂ (PGH₂) из арахидоновой кислоты, а mPGES-1 катализирует синтез простагландина E₂ (PGE₂) из PGH₂. Отсутствие влияния ИЛ-1 β на центральный и периферический хеморефлексы на фоне действия диклофенака позволяет сделать вывод о том, что одним из основных механизмов реализации обнаруженных респираторных эффектов ИЛ-1 β является синтез PGE₂. В соответствии с современными данными, простагландины рассматриваются как один из тормозных модуляторов, вносящих вклад в респираторную депрессию [18]. Установлено, что при повышении системного уровня цитокинов простагландины в больших количествах экспрессируются клетками церебрального эндотелия [68, 91]. Будучи небольшими растворимыми молекулами, PG легко проникают через клеточные мембраны и гематоэнцефалический барьер. Посредством этих молекул цитокины могут влиять на функции даже тех

нейронов, которые не имеют рецепторов цитокинов и модулировать центральные механизмы регуляции дыхания, так как высокий уровень экспрессии рецепторов простагландинов обнаруживается в области ядра одиночного тракта, амбигуального ядра, прабрахияльных ядер, т.е. в респираторно-зависимых областях мозгового ствола [66, 70].

Простагландины могут опосредовать действие воспалительных цитокинов и на периферическую хеморецепцию, участвуя в модуляции активности каротидного тела. Установлено, что гломусные клетки каротидных тел экспрессируют рецепторы PGE₂ и цитокинов воспаления (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α). Поэтому при системном введении не исключается возможность торможения простагландинами гломусных клеток каротидного тела, т.к. показано, что PGE₂ тормозит гипоксически индуцированное высвобождение катехоламина из клеток I типа в каротидных телах, которое является маркером деполяризации [44].

Цепочку событий, происходящих после повышения церебрального и системного уровня ИЛ-1 β можно описать следующим образом. Повышение церебрального уровня ИЛ-1 β вызывает индукцию COX-2 клеточными элементами мозга, имеющими рецепторы к ИЛ-1. Это могут быть и глиальные, и нервные клетки. Повышение уровня ИЛ-1 β в кровеносной системе способствует индукции COX-2 эндотелием церебральных сосудов и клетками каротидного тела, имеющего большое количество рецепторов ИЛ-1. В результате и в первом, и во втором случае усиливается синтез простагландинов E₂, которые высвобождаются в межклеточное пространство и оказывают тормозное действие на нервные клетки имеющие рецепторы к PGE₂.

Результаты исследований указывают также на важную роль оксида азота в путях проведения влияния воспаления и гиперцитокинемии на рефлекторный контроль дыхания [1, 17, 50, 57, 67]. В организме NO синтезируется в результате окислительной реакции, катализируемой ферментом NO-синтазой (NOS) из L-аргинина. В экспериментах на наркотизированных крысах с повышенным системным уровнем ИЛ-1 β и ФНО-альфа было установлено, что действие неспецифического ингибитора NO-синтаз L-нитро-аргинин-метилэфира (L-NAME) значительно ослабляет модулирующее влияние провоспалительных цитокинов на паттерн дыхания и респираторные хеморефлексы [5, 17]. Эти факты указывает на участие оксида азота в реализации респираторных влияний провоспалительных цитокинов.

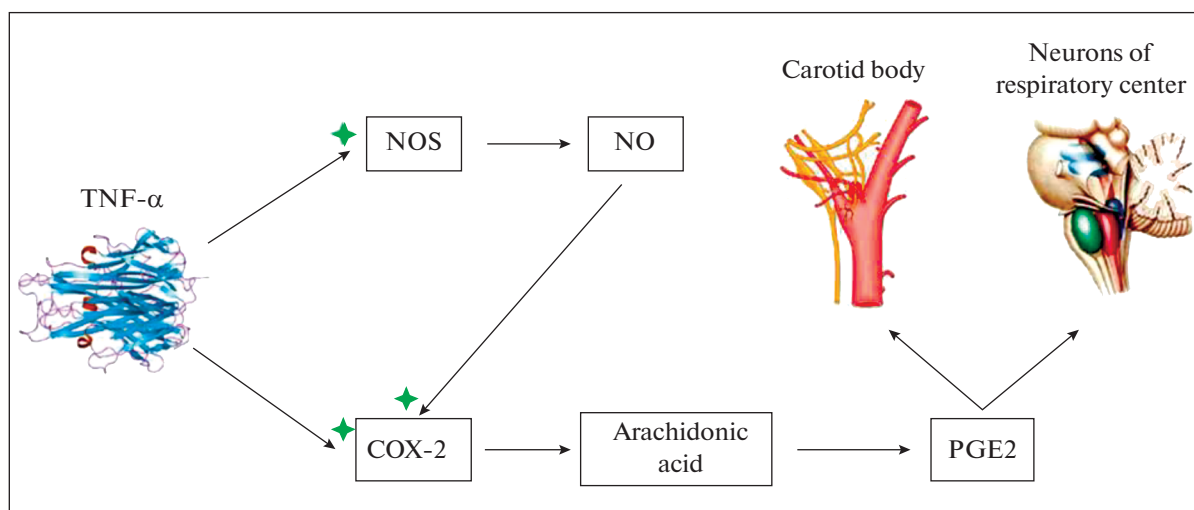


Рис. 1. Схема участия циклооксигеназных (COX) и No-синтазных (NOS) путей в реализации респираторных эффектов провоспалительных цитокинов.

Усиление синтеза NO при повышении системного уровня провоспалительных цитокинов происходит при взаимодействии цитокинов с их рецепторами, расположенными в эндотелии кровеносных сосудов. Обладая высокой проникающей способностью, они легко диффундируют через мембрану близлежащих клеток и влияют на внутриклеточные процессы, не взаимодействуя с мембранными рецепторами [21]. Диффундируя в соседние клетки, оксид азота активизирует в них образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), способного влиять на проводимость ионных каналов и, таким образом, изменять электрогенез нейронов. Установлено, что NO способен модулировать возбудимость гломусных клеток и сенсорных нейронов каротидных тел. Внедрение животным аденовируса, экспрессирующего нейрональную NO-синтазу, уменьшает базовые разряды хеморецепторов каротидных тел и ослабляет ответ на гипоксию [57]. В других исследованиях было показано двойственное дозозависимое влияние оксида азота на артериальную хеморецепцию: при нормоксии NO усиливает каротидные хемосенсорные разряды, а при гипоксии — ослабляет [50, 65]. Этот факт объясняет обнаруженный нами двойственный респираторный эффект ИЛ-1 β и ФНО- α : экзогенное повышение системного уровня этих цитокинов увеличивает базовую вентиляцию при нормоксии, но уменьшает вентиляционный ответ на гипоксию.

Анализ данных литературы указывают на возможность участия провоспалительных цитокинов в модуляции хеморефлекторного контроля дыхания не только в патологических, но и в нормальных физиологических условиях, посред-

ством активации конститутивных форм NOS, нейрональной и эндотелиальной, в гломусных клетках каротидных тел [85]. Однако в условиях цитокинового шторма роль оксида азота в модуляции дыхательных хеморефлексов может резко возрасти, так как провоспалительные цитокины способствуют усилению макрофагального синтеза индуцибельной NO-синтазы (iNOS). При этом синтез оксида азота может в сотни раз превышать синтез, осуществляемый конститутивными изоформами фермента. В этом случае действие фермента iNOS перестает быть физиологическим, так как высокие дозы NO токсичны для клеток.

Известные на сегодняшний день данные указывают на то, что активация и взаимодействие циклооксигеназных и NO-синтазных путей может быть одним из основных специфических механизмов, посредством которого провоспалительные цитокины способны изменять функциональное состояние дыхательной системы. Впервые о возможности взаимодействия между циклооксигеназными и NO-синтазными путями сообщалось в работе Salvemini в 1993 [76]. Это исследование показало, что NO активирует циклооксигеназу. Впоследствии, многие исследования подтвердили, что активность циклооксигеназы, а соответственно и синтеза простагландинов, может регулироваться оксидом азота [32, 63–65]. На моделях воспаления было доказано, что молекулы NO и простагландинов могут продуцироваться одновременно в одних и тех же тканях [32, 34]. Дальнейшие исследования подтвердили, что нитрооксиданты (NO, супероксид, пероксинитрит) модулируют биосинтез простагландинов через циклооксигеназные пути [53, 77]. Однако в пол-

ной мере конкретные молекулярные механизмы, с помощью которых NO регулирует выработку простагландинов пока остаются не выясненными. Известные в настоящее время данные позволяют предположить, что в основе негативного влияния провоспалительных цитокинов на гипоксический и гиперкапнический хеморефлексы может лежать усиление синтеза простагландинов, вызванное активацией циклооксигеназных и NO-синтазных путей при цитокин-рецепторном взаимодействии на гломусных клетках каротидного тела и эндотелии церебральных сосудов. На рис. 1 представлена возможная схема такого взаимодействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных убеждает в актуальности проведения исследований механизмов респираторных эффектов провоспалительных цитокинов с целью выяснения путей влияния цитокинового шторма на функцию внешнего дыхания и его роли в развитии дыхательной недостаточности. Патогенез цитокинового шторма имеет множественные причины, характеризуясь как морфологическими повреждениями дыхательных путей, так и нарушением рефлекторных механизмов регуляции дыхания. Снижение вентиляционного ответа на гипоксию и гиперкапнию при повышении системного и церебрального уровня провоспалительных цитокинов свидетельствует о том, что цитокиновый шторм ослабляет компенсаторные возможности системы внешнего дыхания, препятствуя восстановлению нормального газового состава артериальной крови. Это усугубляет ухудшение вентиляционной функции легких, вызванное диффузным и экссудативным поражением альвеол, способствующим развитию острого респираторного дистресс-синдрома. Исследование влияния провоспалительных цитокинов на нейрогенные, рефлекторные механизмы регуляции висцеральных функций расширяют представления о патогенезе цитокинового шторма и могут иметь существенное значение для профилактики и лечения его последствий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В.Г., Александрова Н.П., Туманова Т.С. и др. Участие NO-ергических механизмов в реализации респираторных эффектов провоспалительного цитокина интерлейкина 1-бета // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101 № 10. С. 1190.
2. Александрова Н.П., Меркурьев В.А., Туманова Т.С., Александров В.Г. Механизмы модуляции рефлекторного контроля дыхания при повышении системного уровня провоспалительного цитокина интерлейкина 1-β // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101. № 10. С. 1158.
3. Доница Ж.А., Баранова Е.В., Александрова Н.П. Влияние провоспалительного цитокина интерлейкина 1-β на резистентность организма к острой гипоксии. Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2016. Т. 102. № 11. С. 1333.
4. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. Спб.: Фолиант, 2008. С. 552.
5. Клиникова А.А., Данилова Г.А., Александрова Н.П. Роль NO-синтазных путей в реализации влияния провоспалительных цитокинов на паттерн дыхания и вентиляционный ответ на гипоксию // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2021. Т. 107. № 11. С. 1. <https://doi.org/10.31857/S0869813921110042>
6. Менакер С. Гуморальная и нервная регуляция дыхания // Патофизиология легких. Москва: Бином, 2008. С. 220.
7. Мороз В.В., Голубев А.М., Марченков Ю.В. и др. Морфологические признаки острого повреждения легких различной этиологии (экспериментальное исследование) // Общая реаниматология. 2010. Т. 6. № 3. С. 29. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2010-3-29>
8. Мюльберг А.А., Гришина Е.В. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий // Успехи физиологических наук. 2006. Т. 37. № 1. С. 18.
9. Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология. Москва: Мир, 2000.
10. Тарасова И.В. Система комплемента // Аллергология и иммунология в педиатрии. 2010. № 2(21). С. 45.
11. Филипова Л.В., Ноздрачев А.Д. Бронхолегочный нервнорецепторный аппарат // Вестник СПб университета. 2010. Сер. 3. Вып. 3. С. 54.
12. Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром // Архив патологии. 2004. № 3. С. 5–11.
13. Abhyankar S., Gilliland D.G., Ferrara J.L. Interleukin-1 is a critical effector molecule during cytokine dysregulation in graft versus host disease to minor histocompatibility antigens // Transplantation. 1993. V. 56(6). P. 1518. <https://doi.org/10.1097/00007890-199312000-00045>
14. Aleksandrova N.P., Danilova G.A. Effect of intracerebroventricular injection of interleukin-1-beta on the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia // Eur. J. Med. Res. 2010. V. 15(II). P 3.
15. Aleksandrova N.P., Danilova G.A., Aleksandrov V.G. Cyclooxygenase pathway in modulation of the ventilatory response to hypercapnia by interleukin-1β in rats // Respir. Physiol. Neurobiol. 2015. V. 209. P. 85. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2014.12.006>
16. Aleksandrova N.P., Danilova G.A., Aleksandrov V.G. Interleukin-1beta suppresses the ventilatory hypoxic response in rats via prostaglandin dependent pathways //

- Canad. J. Physiol. Pharmacol. 2017. V. 95(6). P. 681.
<https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0419>
17. *Aleksandrova N.P., Klinnikova A.A., Danilova G.A.* Cyclooxygenase and nitric oxide synthase pathways mediate the respiratory effects of TNF- α in rats // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2021. V. 284: 103567.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2020.103567>
 18. *Ballanyi K., Onimaru H., Homma I.* Respiratory network function in the isolated brainstem-spinal cord of newborn rats // *Prog. Neurobiol.* 1999. V. 59. P. 583–634.
 19. *Behrens E.M., Koretzky G.A.* Cytokine storm syndrome. Looking toward the precision medicine era // *Arthritis Rheumatol.* 2017. V. 69(6). P. 1135.
<https://doi.org/10.1002/art.40071>
 20. *Blackwell N.S., Christman J.W.* Sepsis and cytokines: current status // *Br. J. Anaesth.* 1996. V. 77. P. 110.
<https://doi.org/10.1093/bja/77.1.110>
 21. *Brenman J.E., Bredt D.S.* Nitric oxide signaling in the nervous system // *Methods Enzymol.* 1996. V. 269. P. 119.
[https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(96\)69014-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(96)69014-4)
 22. *Bulanov A.* Transfusion-associated lung injury (TRALI): obvious and incomprehensible // *Anest. Reanimatol.* 2009. V. 5. P. 48.
 23. *Burger D., Daer J.-M.* Inhibitory cytokines and cytokine inhibitors // *Neurology.* 1995. V. 45(6). P. S39.
https://doi.org/10.1212/wnl.45.6_suppl_6.s39
 24. *Casey L.C., Balk R.A., Bone R.C.* Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome // *Ann. Intern. Med.* 1993. V. 119(8). P. 771.
<https://doi.org/10.7326/0003-4819-119-8-199310150-00001>
 25. *Channappanavar R., Fehr A.R., Vijay R. et al.* Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice // *Cell host & Microbe.* 2016. V. 19(2). P. 181.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.01.007>
 26. *Channappanavar R., Perlman S.* Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology // *Semin. Immunopathol.* 2017. V. 39. P. 529.
<https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>
 27. *Chen N., Zhou M., Dong X. et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *Lancet.* 2020. V. 395. № 10223. P. 507.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
 28. *Chousterman B.G., Swirski F.K., Weber G.F.* Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis // *Seminars in Immunopathology.* 2017. V. 39(5). P. 517.
 29. *Churchill L., Taishi P., Wang M. et al.* Brain distribution of cytokine mRNA induced by systemic administration of interleukin-1 β or tumor necrosis factor α // *Bran Res.* 2006. V. 1120. № 1. P. 64.
 30. *Cohen J.* The immunopathogenesis of sepsis // *Nature.* 2002. V. 420. P. 885.
<https://doi.org/10.1038/nature01326>
 31. *Conti H., Caraffa A., Gallenga C. et al.* Coronavirus-19 (SARS-CoV-2) induces acute severe lung inflammation via IL-1 causing cytokine storm in COVID-19: a promising inhibitory strategy // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2020. P. 34(6). P. 1971.
<https://doi.org/10.23812/20-1-E>
 32. *Cuzzocrea S., Salvemini D.* Molecular mechanisms involved in the reciprocal regulation of cyclooxygenase and nitric oxide synthase enzymes // *Kidney.* 2007. Int. 71 (4). P. 290.
<https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002058>
 33. *Dantzer R., Konsman J.P., Bluthé R.M. et al.* Neural and humoral pathways of communication from the immune system to the brain: parallel or convergent? // *Auton. Neurosci.* 2000. V. 85(1–3). P. 60.
 34. *Dantzer R., Konsman L., Silva B.R. et al.* Endothelial nitric oxide synthase and cyclooxygenase are activated by hydrogen peroxide in renal hypertensive rat aorta // *Eur. J. Pharmacol.* 2017. V. 814. P. 87.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.07.047>
 35. *Davidson S., Maini M.K., Wack A.* Disease-promoting effects of type I interferons in viral, bacterial, and coinfections // *J. Interferon & Cytokine Research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research.* 2015 V. 35(4). P. 252.
<https://doi.org/10.23812/20-1-E>
 36. *Drosten C., Seilmaier M., Corman V.M. et al.* Clinical features and virological analysis of a case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection // *The Lancet Infectious Diseases.* 2013. V. 13(9). P. 745.
 37. *Dushianthan A., Grocott M.P., Postle A.D., Cusack R.* Acute respiratory distress syndrome and acute lung injury // *Postgrad. Med. J.* 2011. V. 87(1031). P. 612.
 38. *Ericsson A., Kovacs K.J., Sawchenko P.E.* A functional anatomical analysis of central pathways subserving the effects of interleukin-1 on stress-related neuroendocrine neurons // *J. Neurosci.* 1994. V. 14. № 2. P. 897.
 39. *Ericsson A., Liu C., Hart R.P., Sawchenko P.E.* Type 1 interleukin-1 receptor in the rat brain: distribution, regulation, and relationship to sites of IL-1-induced cellular activation // *J. Comp. Neurol.* 1995. V. 361. P. 681.
 40. *Fernández R., González S., Rey S. et al.* Lipopolysaccharide-induced carotid body inflammation in cats: functional manifestations, histopathology and involvement of tumour necrosis factor- α // *Exp. Physiol.* 2008. V. 93(7). P. 892.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2008.041152>
 41. *Ferrara J.L.* Cytokine dysregulation as a mechanism of graft versus host disease // *Curr. Opin. Immunol.* 1993. V. 5(5). P. 794.
[https://doi.org/10.1016/0952-7915\(93\)90139-j](https://doi.org/10.1016/0952-7915(93)90139-j)
 42. *Ferrara J.L., Abhyankar S., Gilliland D.G.* Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1 // *Transplant. Proc.* 1993. V. 25 (Pt 2). P. 1216.
 43. *Gauda E.B., Shirahata M., Mason A. et al.* Inflammation in the carotid body during development and its

- contribution to apnea of prematurity // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2013. V. 185(1). P. 120.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2012.08.005>
44. *Gomez-Nino A., Lopez-Lopez J.R., Almaraz L., Gonzalez C.* Inhibition of [3H] catecholamine release and Ca²⁺ currents by prostaglandin E2 in rabbit carotid body chemoreceptor cells // *J. Physiology (London)*. 1994. V. 476. P. 269–277.
 45. *Gordon F.J.* Effect of nucleus tractus solitarius lesions on fever produced by interleukin-1beta // *Auton. Neurosci.* 2000. V. 85. P. 102.
[https://doi.org/10.1016/s1566-0702\(00\)00228-9](https://doi.org/10.1016/s1566-0702(00)00228-9)
 46. *Gosselin L.E., Barkley J.E., Spencer M.J. et al.* Ventilatory dysfunction in mdx mice: impact of tumour necrosis factor-alpha deletion // *Muscle Nerve*. 2003. V. 28. P. 336.
<https://doi.org/10.1002/mus.10431>
 47. *Graff G.R., Gozal D.* Cardiorespiratory responses to interleukin-1beta in adult rats: role of nitric oxide, eicosanoids and glucocorticoids // *Arch. Physiol. Biochem.* 1999. V. 107(2). P. 97.
 48. *Herlenius E.* An inflammatory pathway to apnea and autonomic dysregulation // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2011. V. 178. P. 449.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.06.026>
 49. *Hofstetter A.O., Herlenius E.* Interleukin-1beta depresses hypoxic gasping and autoresuscitation in neonatal DBA/11acJ mice // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2005. V. 146. № 2–3. P. 135.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.11.002>
 50. *Iturriaga R.* Nitric oxide and carotid body chemoreception // *Biol. Res.* 2001. V. 34(2). P. 135.
<https://doi.org/10.4067/s0716-97602001000200019>
 51. *Jiang Y., Xu J., Zhou C. et al.* Characterization of cytokine/chemokine profiles of severe acute respiratory syndrome // *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 2005. V. 171(8). P. 850.
<https://doi.org/10.1164/rccm.200407-857OC>
 52. *Kempuraj D., Selvakumar G.P., Ahmed M.E. et al.* COVID-19, Mast Cells, Cytokine Storm, Psychological Stress, and Neuroinflammation // *Neuroscientist*. 2020. V. 26(5–6). P. 402.
<https://doi.org/10.1177/1073858420941476>
 53. *Kim S.F.* The role of nitric oxide in prostaglandin biology; update // *Nitric Oxide*. V. 25(3). 2011. P. 255.
<https://doi.org/10.1016/j.niox.2011.07.002>
 54. *Komorowski M., Aberegg S.K.* Using applied lung physiology to understand COVID-19 patterns // *British J. Anaesthesia*. 2020. V. 125. № 3. P. 250.
<https://doi.org/10.1016/j.bja.2020.05.019>
 55. *Lam S.Y., Tipoe G.L., Liong E.C., Fung M.L.* Chronic hypoxia upregulates the expression and function of proinflammatory cytokines in the rat carotid body // *Histochem. Cell Biol.* 2008. V. 130(3). P. 549.
<https://doi.org/10.1007/s00418-008-0437-4>
 56. *Lee L.Y.* Respiratory sensations evoked by activation of bronchopulmonary C-fibers // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2009. V. 167(1). P. 26.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2008.05.006>
 57. *Li Y-L., Li Y-F., Liu D. et al.* Gene transfer of neuronal nitric oxide synthase to carotid body reverses enhanced chemoreceptor function in heart failure rabbits // *Circ Res.* 2005. V. 97(3). P. 260.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000175722.21555.55>
 58. *Li H.F., Yu J.* Airway chemosensitive receptors in vagus nerve perform neuro-immune interaction for lung-brain communication // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2009. V. 648. P. 421.
https://doi.org/10.1007/978-90-481-2259-2_48
 59. *Lin S., Li H., Xu L. et al.* Arachidonic acid products in airway nociceptor activation during acute lung injury // *Exp. Physiol.* 2011. V. 96. P. 966
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2011.058263>
 60. *Lin S.-H., Zhao Y.-S., Zhou D.-X. et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19): cytokine storms, hyper-inflammatory phenotypes, and acute respiratory distress syndrome // *Genes Dis.* 2020. V. 7(4). P. 520.
<https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.06.009>
 61. *Loeschcke H.H.* Respiratory chemosensitivity in the medulla oblongata // *Acta Neurobiol. Exp.* 1973. V. 33. P. 97.
 62. *Maier S.F., Goehler L.E., Fleshner M., Watkins L.R.* The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication // *Ann. New York: Acad. Sci.* 1998. V. 840. P. 289.
 63. *Molina-Holgado F., Lled'o A., Guaza C.* Evidence for cyclooxygenase activation by nitric oxide in astrocytes // *Glia*. 1995. V. 15 (2). P. 167.
 64. *Mollace V., Muscol C., Masin E. et al.* Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors // *Pharmacol. Rev.* 2005. V. 57(2). P. 217.
 65. *Moya E.A., Alcayaga J., Iturriaga R.* NO modulation of carotid body chemoreception in health and disease // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2012. V. 184(2). P. 158.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2012.03.019>
 66. *M. Ek, Alcayaga E., Arias C. et al.* Distribution of the EP3 prostaglandin E (2) receptor subtype in the rat brain: relationship to sites of interleukin-1-induced cellular responsiveness // *J. Comp. Neurol.* 2000. 428(1). 5–20.
[https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001204\)428:1<5::aid-cne2>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001204)428:1<5::aid-cne2>3.0.co;2-m)
 67. *Murakami Y., Yokotani K., Okuma Y., Osumi Y.* Nitric oxide mediates central activation of sympathetic outflow induced by interleukin-1 beta in rats // *Eur. J. Pharmacol.* 1996. V. 317(1). P. 61.
 68. *Nadeau S., Rivest S.* Effects of circulating tumor necrosis factor on the neuronal activity and expression of the genes encoding the tumor necrosis factor receptors (p55 and p75) in the rat brain: a view from the blood-brain barrier // *Neuroscience*. 1999. V. 93 (4). P. 1449.
 69. *Nakamori T., Morimoto A., Murakami N.* Effect of a central CRF antagonist on cardiovascular and thermo-

- regulatory responses induced by stress or IL-1 β // *Am. J. Physiol.* 1993. V. 265(4). P. 834.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1993.265.4.R834>
70. Nakamura K., Kaneko T., Yamashita Y. et al. Immunohistochemical localization of prostaglandin EP3 receptor in the rat nervous system // *J. Comp. Neurol.* 2000. V. 421(4). P. 543.
71. Olsson A., Kayhan G., Lagercrantz H., Herlenius E. IL-1 beta depresses respiration and anoxic survival via a prostaglandin-dependent pathway in neonatal rats // *Pediatr Res.* 2003. V. 54. P. 326–331.
<https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000076665.62641.A2>
72. Oppenheim J.J. Cytokines, their receptors and signals // In: *The Autoimmune Diseases*. London: Elsevier. V. 2020. P. 275.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812102-3.00015-4>
73. Parsons P.E., Eisner M.D., Thompson B.T. et al. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury // *Critical Care Medicine.* 2005. V. 33(1). P. 1–232.
<https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000149854.61192.dc>
74. Porzionato A., Macch, V., De Caro R., Di Giulio C. Inflammatory and immunomodulatory mechanisms in the carotid body // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2013. V. 187(1). P. 31.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2013.02.017>
75. Pugin J., Ricou B., Steinberg K.P. et al. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1 // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1996. V. 153. P. 1850.
76. Salvemini D., Misko T.P., Masferrer J.L. et al. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993. 90(15). 7240.
77. 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.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00355.2012>
78. Shaw A.S., Goldstein D.R., Montgomery R.R. Age-dependent dysregulation of innate immunity // *Nature reviews Immunology.* 2013. V. 13(12). P. 875.
79. Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M. et al. Cytokine release syndrome // *J. Immuno Therapy of Cancer.* 2018. V. 6(1). P. 56.
80. Song P., Li W., Xie J., Hou Y., You C. Cytokine storm induced by SARS-CoV-2 // *Clin. Chim. Acta.* 2020. V. 509. P. 280–7.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.017>
81. Stockman L.J., Bellamy R., Garner P. SARS: systematic review of treatment effects // *PLoS Medicine.* 2006. V. 3(9). P. 343-e.
<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030343>
82. Tay M.Z., Poh C.M., Renia L. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention // *Nat. Rev. Immunol.* 2020. V. 20. P. 363.
<https://doi.org/10.1038/s41577-020-0311-8>
83. Tisoncik Korth M.J., Simmons C.P. et al. Into the eye of the cytokine storm // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2012. V. 76(1). P. 16.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.05015-11>
84. Tonini G., Sanini D., Vincenzi B. et al. Oxaliplatin may induce cytokine release syndrome in colorectal cancer patients // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2002. P. 16.
85. Valdes V., Mosqueira M., Rey S. Inhibitory effects of NO on carotid body: contribution of neural and endothelial nitric oxide synthase isoforms // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2003. V. 284(1). P. 57.
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9280-2_45
86. Wang H., Ma S. The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome // *The Amer. J. Emerg. Med.* 2008. V. 26(6). P. 711.
<https://doi.org/10.1016/j.ajem.2007.10.031>
87. Wang X., Wang B.R., Duan X. L. Strong expression of interleukin-1 receptor types I in the rat carotid body // *J. Histochem. Cytochem.* 2002. V. 50(12). P. 1677.
<https://doi.org/10.1177/002215540205001213>
88. Wang X., Zhang X.J., Xu Z. Morphological evidence for existence of IL-6 receptor alpha in the glomus cells of rat carotid body // *Anat. Rec. A Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.* 2006. V. 288(3). P. 292.
<https://doi.org/10.1002/ar.a.20310>
89. Watanabe T., Tan N., Saiki Y. et al. Possible involvement of glucocorticoids in the modulation of interleukin-1-induced cardiovascular responses in rats // *J. Physiol.* 1996. V. 491(1). P. 231.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021211>
90. Wong J.P., Viswanathan S., Wan M. et al. Current and future developments in the treatment of virus-induced hypercytokinemia // *Future Medicinal Chemistry,* 2017. V. 9. № 2. P. 169.
<https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0181>
91. Wong M.L., Bongiorno P.B., Gold P.W., Licinio J. Localization of interleukin-1beta converting enzyme mRNA in rat brain vasculature: evidence that the genes encoding the interleukin-1 system are constitutively expressed in brain blood vessels // *Pathophys. Implicat. Neuroimmun. Modulat.* 1995. V. 2(3). P. 141.
<https://doi.org/10.1159/000096884>
92. Yu J., Lin S., Zhang J. et al. Airway nociceptors activated by pro-inflammatory cytokines // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2007. V. 156. P. 116.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2006.11.005>
93. Zapata P., Larrain C., Reyes P., Fernández R. Immunosensory signaling by carotid body chemoreceptors // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2011. V. 178(3). P. 370.
<https://doi.org/doi:10.1016/j.resp.2011.03.025>

Mechanisms of Influence of the Cytokine Storm on the Respiratory System

N. P. Aleksandrova*

Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia

**e-mail: aleks@infran.ru*

Abstract—Based on current experimental and clinical data, the review examines the consequences of an excessive increase in the systemic level of pro-inflammatory cytokines, the so-called cytokine storm, which causes the development of systemic inflammation, which is characteristic of the severe course of the new viral infection SARS COV-19. The physiological mechanisms of the influence of pro-inflammatory cytokines on the respiratory system at the tissue, organ, and system levels are discussed. Our own experimental data are presented, according to which a cytokine storm can increase the dysfunction of the respiratory system through the action of pro-inflammatory cytokines on the reflex mechanisms of regulation of the ventilation function of the lungs, thereby weakening the compensatory capabilities of the respiratory system. It is emphasized that research in this direction opens up new perspectives in the study of regulatory processes occurring in the central nervous system, contributes to the disclosure of mechanisms of intersystem interactions involved in the central control of visceral functions.

Keywords: cytokine storm, pro-inflammatory cytokines, lung ventilation, acute respiratory distress syndrome, control of respiration, prostaglandins, nitric oxide

УДК 615.23:612.11

ФАКТОР, ИНДУЦИРУЕМЫЙ ГИПОКСИЕЙ И ИНГИБИТОРЫ ПРОЛИЛГИДРОКСИЛАЗЫ – НОВАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ И КЛАСС ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, СТИМУЛИРУЮЩИХ ЭРИТРОПОЭЗ И НЕ ТОЛЬКО

© 2022 г. Д. В. Куркин^а, *, Д. А. Бакулин^а, Е. Е. Абросимова^а, И. Н. Тюренков^а^аФГБОУ Волгоградский Государственный медицинский университет, Волгоград, 400087 Россия

*e-mail: strannik986@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2022 г.

После доработки 25.03.2022 г.

Принята к публикации 02.04.2022 г.

В статье приводится обзор отечественных и зарубежных публикаций, посвященных гипоксии и средствам ее коррекции. Рассмотрены гипотезы адаптации организма и его клеток к гипоксическим условиям, а также история открытия, строение, пути активации и биологические эффекты HIF – фактора, индуцируемого гипоксией. Описаны процессы, при которых указанный фактор выступает в роли цитопротектора, а также те условия, при которых HIF может являться патологическим звеном. Рассмотрены и описаны ингибиторы пролилгидроксилазы HIF – ключевого фермента, разрушающего фактора, индуцируемого гипоксией (роксадустат, вададустат, молидустат, дапродустат, десидустат, энародустат), в том числе их применение и побочные эффекты.

Ключевые слова: гипоксия, HIF, ингибиторы пролилгидроксилазы HIF, ангиогенез, эритропоэз, воспаление, иммунитет, роксадустат

DOI: 10.31857/S0301179822030067

ВВЕДЕНИЕ

Кислород жизненно необходим большинству организмов для осуществления метаболизма и продукции энергии. При нарушении оксигенации наступает состояние гипоксии, влекущее за собой клеточную и тканевую дисфункцию с последующей их гибелью. В наиболее общем виде гипоксию можно определить, как несоответствие энергопотребности клетки энергопродукции в системе митохондриального окислительного фосфорилирования. Причинами гипоксии, как правило, являются внешние и внутренние факторы: расстройства внешнего дыхания, кровообращения в легких, кислородтранспортной функции крови, нарушения системного, регионарного кровообращения и микроциркуляции, эндотоксемия [6]. Следовательно, улучшение адаптации к недостаточности кислорода важно для терапевтического влияния на течение и исход внутренних факторов. Первые разработки в данном направлении появились в 60-е годы XX в. на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в Ленинграде и принадлежали профессору В.М. Виноградову: были созданы средства защиты от гипоксии, затем получившие название антигипоксантов. Одними

из первых представителей данной группы являлись аминотиоловые производные (гутимин, амтизол) [2].

Дальнейшие исследования привели к созданию многочисленных антигипоксических средств, имеющих различные точки приложения:

Антигипоксанты прямого энергизирующего действия – корректоры нарушений энергетического обмена (иначе корректоры дисфункции дыхательной цепи митохондрий);

Антигипоксанты непрямого энергизирующего действия (корректоры нарушений метаболических путей) [4].

Классификация антигипоксантов включает [6]:

1. Ингибиторы окисления жирных кислот.
2. Сукцинатсодержащие и сукцинатобразующие средства.
3. Естественные компоненты дыхательной цепи.
4. Искусственные редокс-системы.
5. Макроэргические соединения.

Антигипоксанты как самостоятельный класс лекарственных препаратов выделен только в России, однако их противогипоксическое действие исследуется учеными и имеет перспективы для лечения различных заболеваний (например, ней-

родегенеративные заболевания, опосредованные митохондриальной дисфункцией [29] и окислительным стрессом [76], коррекцией и адаптацией организма к экстремальным условиям среды [48]).

В последнее время все больше внимания исследователей в области физиологии и фармакологии уделяется фактору, индуцируемому гипоксией (HIF), как белку, участвующему в системном ответе организма на изменение концентрации кислорода (изменение его активности — один из ключевых факторов адаптации к изменению условий среды). Изучение физиологии HIF может стать объяснением феномену прекондиционирования (применяющегося в кардиохирургии и гипоксических тренировках организма) — метаболической адаптации организма, заключающейся в подготовке клеток и тканей к длительной гипоксии после ряда кратковременных эпизодов нарушения доставки кислорода [5, 7]. Экспрессия гена *HIF-1 α* также может служить маркером — отражать специфический ответ на гипоксическое воздействие [10].

Гипоксия является неотъемлемой частью нормального эмбрионального развития человека, к примеру, это состояние стимулирует стволовые клетки к развитию [74], также концентрация кислорода важна для закрытия нервной трубки плода, регуляции апоптоза и морфогенеза в период гестации [93].

РЕАКЦИЯ КЛЕТОК НА ИЗМЕНЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ O₂

Молекулярный кислород (O₂) необходим для окислительного фосфорилирования — основного источника энергии для клеток всех аэробных организмов. Продуктом этого процесса является углекислый газ (CO₂). Выход концентрации этих газов за пределы физиологического диапазона представляет серьезную угрозу для выживания клеток, тканей и всего организма. Перечисленное выше указывает на чрезвычайную роль процессов контроля и поддержки их эндогенных концентраций (на соответствующих уровнях) для обеспечения процессов гомеостаза.

Высшие организмы, такие как млекопитающие, в процессе эволюции развили механизмы, позволяющие улавливать изменение концентраций O₂ и CO₂ как в кровотоке, так и в отдельных клетках, в результате чего протекают адаптивные реакции к гипоксии или гиперкапнии.

Классический пример высокоспецифичной реакции на гипоксию чувствительных к кислороду клеток — клетки синокаротидной зоны — основные артериальные хеморецепторы, расположенные в бифуркации сонной артерии [54].

Функциональная единица каротидного тельца состоит из гломусных клеток (тип I), которые яв-

ляются нейрональными по своей природе, и клеток типа II, которые более похожи на глиальные стволовые клетки, которые способствуют клеточной пролиферации при хронической гипоксемии [55]. Клетки I типа в первую очередь отвечают за восприятие кислорода. Каротидные тельца не только сильно васкуляризованы, но и сильно иннервируются как афферентными, так и эфферентными волокнами.

Существует несколько гипотез, как клетки I типа улавливают изменение концентрации кислорода.

Согласно *мембранной гипотезе*, в детекции снижения парциального давления кислорода (pO₂) играют роль кислород-чувствительные K⁺-каналы, расположенные на мембране гломусных клеток. Закрытие калиевых каналов служит в качестве первичного события для ответа гломусных клеток типа I на гипоксию. За этим следует деполаризация мембраны и открытие потенциал-зависимых кальциевых каналов, что приводит к притоку кальция, что, в свою очередь, способствует высвобождению нейромедиаторов, таких как дофамин, ацетилхолин и АТФ. Затем происходит стимуляция афферентных волокон и передача сигналов в дыхательный центр. Однако стоит отметить, что калиевые каналы не действуют как прямые кислородные сенсоры: существуют вышестоящие сенсоры O₂, природа которых пока до конца не установлена, однако существует несколько предположений [77], которые будут перечислены ниже.

Гипотеза метаболических сенсоров предполагает, что в условиях достаточно тяжелой гипоксии окислительное фосфорилирование в митохондриях снижается из-за ограниченной доступности конечного акцептора электронов митохондриальной цепи переноса электронов (O₂). Это приводит к снижению выработки АТФ и соответствующему накоплению его предшественника АМФ. Были предложены две отдельные гипотезы, касающиеся того, как снижение концентрации АТФ связано с закрытием K-каналов в гломусных клетках I типа. Первая: связанный с Twik-ассоциированный кислотно-чувствительный K-канал (TASK) активируется АТФ, что приводит к его закрытию при истощении АТФ. Эта прямая связь между истощением АТФ и активностью K-канала проста; однако отсутствующей частью информации в этой модели является идентификация сенсора АТФ. Согласно второй гипотезе, может иметь значение АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК, фермент, активирующийся при истощении АТФ и повышении в клетке отношения АМФ/АТФ). Однако остается не до конца ясным, что служит пусковым сигналом: истощение АТФ или повышение концентрации АМФ в митохондриях кислород-чувствительных клеток [24].

Гипотеза редокс сенсоров предполагает, что измененная генерация активных форм кислорода (АФК) митохондриями в ответ на гипоксию является ключевым событием в детекции концентрации O_2 клетками, которое связывает гипоксию с закрытием калиевого канала и последующей деполяризацией мембраны. Было высказано предположение, что гипоксия вызывает производство АФК комплексом I цепи переноса электронов в митохондриях клеток I типа. Это подтверждается исследованиями с использованием как фармакологической, так и генетической блокады комплекса I [88].

Газотрансмиссивная гипотеза. Существует гипотеза об участии газотрансмиссиверов в реализации чувствительности к кислороду в клетках типа I синокаротидной зоны. К таким газотрансмиссиверам может относиться CO, продуцируемый ферментом гемоксигеназой-2, которая осуществляет превращение гема в биливердин и CO с использованием кислорода. Снижение концентрации кислорода, используемого гемоксигеназой-2, ведет к снижению концентрации CO, который, предположительно, служит активатором калиевых каналов. Таким образом, уменьшение количества CO ведет к закрытию калиевых каналов [21].

Относительно недавно было сделано предположение, что закрытие калиевых каналов, опосредованное CO, осуществляется посредством регуляции продукции другим газотрансмиссивером — H_2S . CO приводит к активации протеинкиназы G, которая, в свою очередь, фосфорилирует и инактивирует цистатинин-гамма-лиазу, основной клеточный источник H_2S . Следовательно, снижение концентрации кислорода при гипоксии вызовет снижение концентрации CO, что, в свою очередь, приведет к снижению активности протеинкиназы G, увеличению активности цистатинин-гамма-лиазы и продукции H_2S [3, 84].

Естественно, чувствительность синокаротидных клеток к гипоксии не является уникальной. Помимо каротидных телец, существуют другие периферические хеморецепторы в тканях и органах, воспринимающие острую гипоксию (например, легочные артерии, артериальный проток, мозговое вещество надпочечников или нейроэпителиальные тельца в легких), которые вместе составляют “сенсорную систему”, имеющую фундаментальное биологическое и медицинское значение [24, 78]. Клетки гладкой мускулатуры этих тканей способны к внутреннему восприятию кислорода посредством окислительно-восстановительного механизма, в котором снижение производства АФК комплексами I и III митохондриальной цепи переноса электронов приводит к регулированию чувствительных к кислороду потенциал-зависимых калиевых каналов, которые индуцируют сужение сосудов за счет усиления

внутриклеточной кальций-зависимой передачи сигналов [26]. Таким образом, в разных химочувствительных клетках организма существует множество механизмов острой чувствительности к кислороду.

Острые физиологические реакции на изменение концентрации O_2 и CO_2 дополняются более медленной и более устойчивой реакцией, которая возникает на клеточном уровне и дополняет респираторную адаптацию посредством регуляции факторов транскрипции и последующей экспрессии генов.

В условиях хронической гипоксии адаптационный ответ клеток и тканей опосредуется преимущественно фактором, индуцируемым гипоксией (HIF).

HIF: ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ

Этот фактор был независимо обнаружен тремя научными группами, под руководством У. Келина, Г. Семензы и П. Ратклиффа, которые независимо друг от друга рассматривали молекулярный механизм восприятия кислорода с разных точек зрения: У. Келин опирался на свой опыт в онкологии и на биохимические исследования; исследования П. Ратклиффа начались с его роли нефролога, а Г. Семенза использовал свои знания в области медицинской генетики. Исследования показали, что в условиях гипоксии активация транскрипции многих регуляторных генов начинается со связывания специфического белка с регуляторным участком на промоторе. Этот белок получил название гипоксией индуцируемый фактор-1 α (*hypoxia inducible factor, HIF-1 α*) [56]. За описание молекулярного механизма, посредством которого работает путь восприятия кислорода клетками, в 2019 г. данным ученым была присуждена Нобелевская премия.

HIF: СТРОЕНИЕ

HIF-1 представляет собой гетеродимер, состоящий из постоянно экспрессируемой β -субъединицы и индуцибельной α -субъединицы (HIF-1 α и HIF-1 β). Обе субъединицы содержат мотив спираль–поворот–спираль, служащий для связывания ДНК и димеризации фактора. HIF-1 α содержит домен кислород зависимой деградации (ODD), который является мишенью пролил-гидроксилазы-2 (PHD-2), которая запускает убиквитин-зависимую протеасомную деградацию α -субъединицы в условиях нормоксии. Также α -субъединица содержит два трансактивационных домена (TAD), регулирующих гены-мишени HIF: белок, связывающий фактор транскрипции CREB и p300, коактиваторы фактора транскрипции. Эти активаторы могут использоваться в качестве мишеней для изменения активности HIF

посредством регуляции его транскрипции и трансляции. Бета-субъединица также известна как арил-углеводородный ядерный транслокатор (ARNT), поскольку был обнаружен раньше HIF-1 α и считался компонентом арил-углеводородного рецептора (AhR), обеспечивающим его перемещение в ядро [56].

Помимо HIF-1 α , существуют также 2 α и 3 α , все они могут связываться с β -субъединицей, различаются только типами экспрессирующих их клеток: 1 α экспрессируется почти всеми клетками, в то время как 2 и 3 представлены менее широко [33].

КИСЛОРОД-ЗАВИСИМЫЙ ПУТЬ АКТИВАЦИИ HIF-1 α

Большинство выявленных к настоящему времени HIF-1 α -взаимодействующих белков регулируют стабильность HIF-1 α либо O₂-зависимым, либо O₂-независимым образом.

В нормоксических условиях HIF-1 α имеет очень короткий период полураспада (около 5 минут) [56], поскольку подвергается быстрой деградации посредством гидроксилирования чувствительными к кислороду HIF-1 α -специфическими пролилгидроксилазами (PHD-1,2,3). В основном активность HIF ограничивается активностью PHD-2 (присутствует почти во всех клетках). Помимо PHD-2 также существует еще две изоформы пролилгидроксилаз: PHD1 и PHD-3, присутствующие и в цитозоле, и в ядре, их функции не различаются. Данные белки принадлежат к суперсемейству Fe (II) и 2-оксoglутарат-зависимых оксигеназ. В условиях нормоксии, α -субъединица HIF гидроксилируется в доменах кислород-зависимой деградации, что создает сайт связывания для белка фон Хиппеля–Ландау (pVHL) – опухолевого супрессора, рекрутирующего убиквитинлигазный белковый комплекс E3, который катализирует образование ковалентной связи убиквитина с остатками лизина в HIF-1 α , что является сигналом для протеасомной деградации α -субъединицы [43, 67]. Субъединицы HIF-1 α также являются субстратами для аспарагинилгидроксилазы, FIN-1 (фактор, ингибирующий HIF-1 α).

FIN-1 также распознает кислород, а гидроксилирование с помощью FIN-1 нарушает критическое взаимодействие между субъединицами HIF-1 α и коактиваторами, такими как p300/CBP, нарушая транскрипционную активность HIF.

Противоположная ситуация наблюдается в условиях гипоксии: пролилгидроксилазы инактивируются (в том числе под действием интермедиатов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК)), нарушается гидроксилирование остатков пролина, α -субъединица стабилизируется и объединяется с β -субъединицей с образованием активного тран-

скрипционного фактора HIF-1, выполняющего свои функции (рис. 1).

КИСЛОРОД-НЕЗАВИСИМЫЙ ПУТЬ АКТИВАЦИИ HIF-1 α

Регуляция стабильности HIF-1 α также может быть опосредована кислород-независимым путем. В цитоплазме HIF-1 α связан с белком теплового шока 90 (Hsp90), повышающим стабильность HIF-1 α . Ингибирование Hsp90 приводит к убиквитинированию и деградации HIF-1 α (рис. 2).

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ HIF

На уровне организма к ответу на изменение активности HIF можно отнести эритропоэз, ангиогенез, метаболическую активность, воспалительные реакции и регуляцию иммунного ответа [32].

У HIF много генов-мишеней, часть из них ответственна за сосудистые реакции после ишемии/гипоксии: ростовые факторы и цитокины, взаимодействующие с рецепторами мембран клеток. В первую очередь это эндотелиальные клетки-предшественники, эндотелиальные клетки, другие ангиогенные клетки, мезенхимальные стволовые клетки, миоциты (рис. 3). Также среди генов-мишеней находятся те, что кодируют ферменты пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК), транспортеры (TRPC1, 5; семейство переходных потенциальных катионных каналов рецепторов) и митохондриальные белки, снижающие утилизацию O₂, регулирующие переключение с окислительного фосфорилирования на гликолиз [36].

Фактор, индуцируемый гипоксией, играет непосредственную роль в эритропоэзе млекопитающих, активируя транскрипцию генов следующих белков [33]:

- транспортер двухвалентного железа 1 (DMT1) и дуоденальный цитохром В, который катализирует восстановление Fe³⁺ до Fe²⁺, необходимого для поглощения железа с пищей в двенадцатиперстной кишке млекопитающих, чтобы увеличить кишечную абсорбцию железа (Fe);
- трансферрин, который переносит Fe к рецепторам трансферрина в костном мозге;
- рецептор эритропоэтина и эндогенный эритропоэтин.

Таким образом, HIF обладает плеiotропностью и является неотъемлемым компонентом клеточного и системного ответа на изменение концентрации кислорода, что нашло применение в терапии различных заболеваний. Важно понимать, что активность HIF может оказывать не только протективное действие, но и быть основным элементом патогенеза некоторых состояний. Следовательно, можно выделить две принципи-

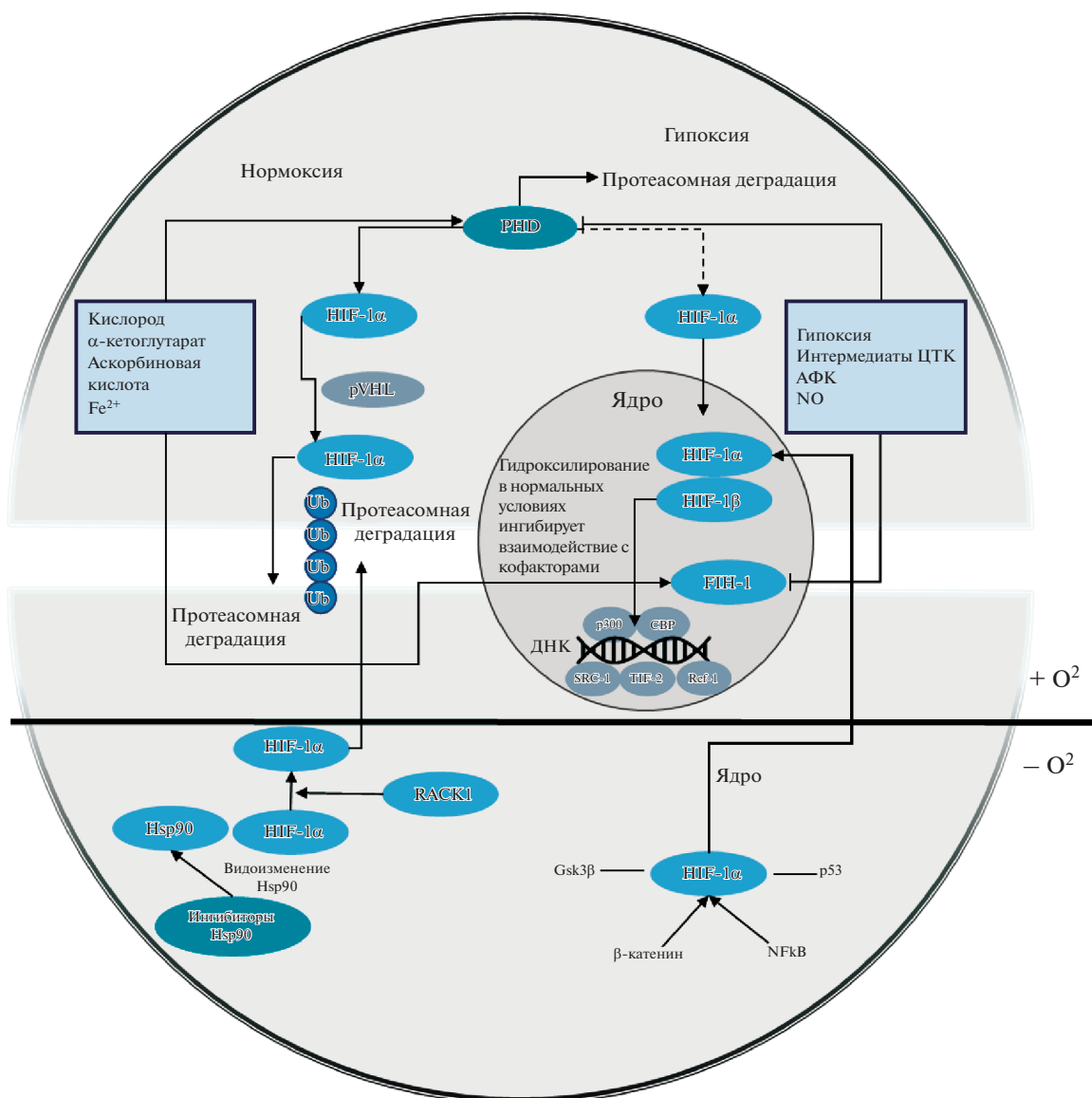


Рис. 1. Кислород-зависимый и кислород-независимый пути активации HIF-1α (<https://www.abcam.com/pathways/HIF-1αpathway>).

альных ситуации, а именно, когда защита HIF целесообразна и когда она не желательна.

**СОСТОЯНИЯ, ПРИ КОТОРЫХ HIF
ВЫСТУПАЕТ КАК ЦИТОПРОТЕКТОР
И ПОВЫШЕНИЕ ЕГО АКТИВНОСТИ
ИЛИ НАКОПЛЕНИЕ В КЛЕТКЕ
НЕОБХОДИМО**

Многие заболевания, сопряженные с гипоксией, протекают на фоне меняющейся активности HIF. К таким состояниям можно отнести **сердечно-сосудистые патологии**: ИБС, нарушения мозгового кровообращения, эндоартериит и др., обусловленные эндотелиальной дисфункцией, воспале-

нием, атеросклеротическим процессом и, в конечном результате, стенозом сосудов. В этих условиях HIF способствует образованию сосудистых коллатералей. Исследования роли HIF в тяжести протекания сердечно-сосудистых патологий показали, что среди пациентов с критическим стенозом коронарной артерии (просвет сужен >70%) точечная мутация *HIF* в 582 остатке (замена пролина на серин) у пациентов без коллатералей встречалась в 5 раз чаще, чем у пациентов с коллатералами. В другом исследовании у пациентов с первичными проявлениями коронарной недостаточности точечные мутации в локусе *HIF-1α* были больше ассоциированы со стенокардией напряжения, как начальным проявлени-

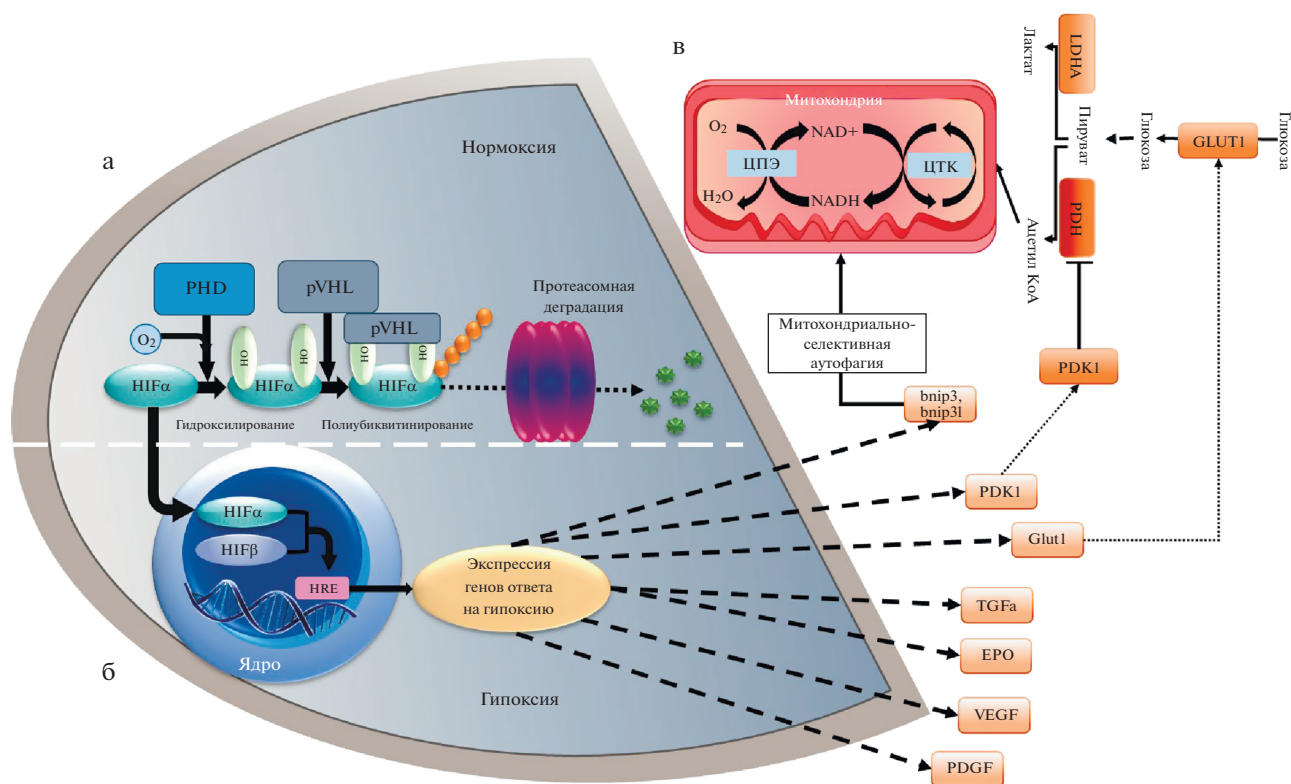


Рис. 2. Механизм активации HIF-1 и гены, кодируемые при его активации.

Описание рисунка:

(а) в условиях нормоксии индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF-1) подвергается протеасомной деградации;

(б) в условиях гипоксии HIF-1 активирует транскрипцию генов, кодирующих следующие: транспортеры глюкозы и гликолитические ферменты, которые увеличивают поток глюкозы в пируват; PDK1 (пируватдегидрогеназная киназа), которая инактивирует PDH (пируватдегидрогеназу), митохондриальный фермент, который преобразует пируват в ацетилКоА для входа в цикл трикарбоновой кислоты (ЦТК); ЛДГ (лактатдегидрогеназа), которая преобразует пируват в лактат;

(в) митохондриальные белки bnip3 и bnip3l, которые индуцируют митохондриально-селективную аутофагию. Шунтирование субстрата от митохондрий снижает продукцию АТФ, но предотвращает избыточную продукцию АФК, которая возникает из-за неэффективного транспорта электронов в гипоксических условиях.

ем коронарной недостаточности, чем с инфарктом миокарда. Можно предположить, что HIF — один из главных модификаторов коронарной недостаточности и играет важную роль в процессе адаптации клеток к хронической гипоксии. Так, в эксперименте феномен прекодиционирования не развивался у мышей, гетерозиготных по гену *HIF-1α* (с одним нулевым аллелем по локусу этого гена, генотип *HIF-1α*^{+/-}). Схожая закономерность справедлива для *стеноза периферических артерий*, особенно нижних конечностей (т.н. перемежающаяся хромота). Длительная ишемия ведет к снижению жизнеспособности тканей и их гибели, что обуславливает высокий риск ампутаций. В условиях эксперимента у животных с перевязанной бедренной артерией наблюдалось повышение уровня HIF-1α и экспрессии HIF-зависимых генов, кодирующих сосудистые ростовые факторы: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), сигнальный белок, вырабатываемый

клетками для стимулирования васкулогенеза (образование эмбриональной сосудистой системы) и ангиогенеза (рост новых сосудов в уже существующей сосудистой системе), SDF-1 (фактор стволовых клеток, играет важную роль в эмбриональном развитии и гематопоэзе, может стимулировать пролиферацию клеток и способствовать их выживанию), ПФР (плацентарный фактор роста), Ang-1 и 2 (ангиопоэтин 1 и 2), PDGF (тромбоцитарный фактор роста В) и (SCF) фактор стволовых клеток. Дополнительно к этому, ангиогенные клетки костного мозга мигрируют в ишемический очаг и совместно с факторами ангиогенеза усиливают восстановление гемоперфузии тканей. При этом полученные результаты хуже у старых и гетерозиготных по гену *HIF-1α* (*HIF-1α*^{+/-}) мышей [15].

Исследования показали, что лечение, нацеленное лишь на один ангиогенный фактор (например, только VEGF), не дает значительных ре-

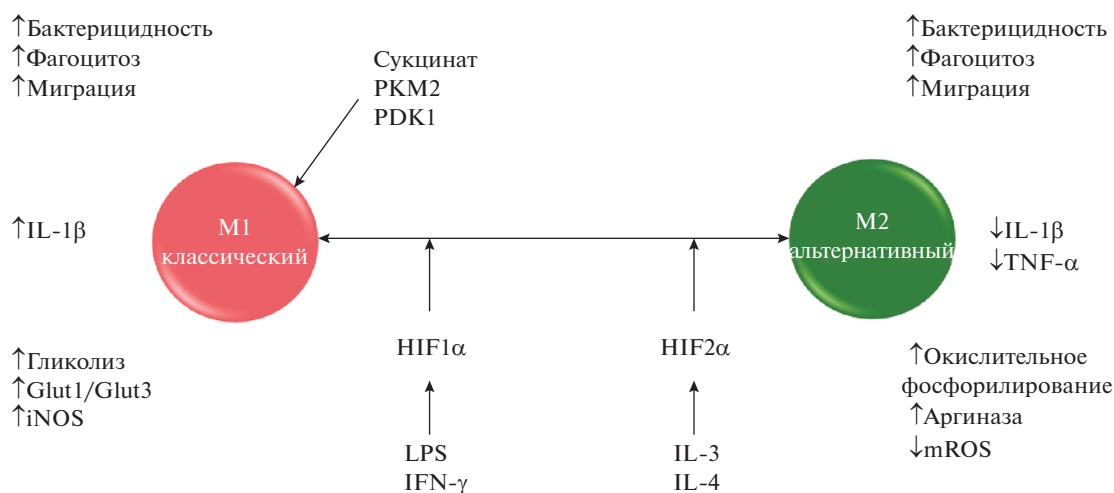


Рис. 3. Роль HIF в реализации иммунного ответа.

Описание рисунка: HIF-1 α и HIF-2 α играют разные роли в поляризационных макрофагах, причем HIF-1 α благоприятствует M1 или классически активированным клеткам, и HIF-2 α благоприятствует M2 или альтернативно активированным клеткам. Эта поляризация приводит к изменениям в продукции и метаболизме воспалительных цитокинов. Кроме того, метаболиты и метаболические ферменты, включая сукцинат, PDK1 и PKM2 (пируваткиназа типа K, изоферментом из гликолитического фермента пируваткиназы), также могут играть роль в HIF-1 α -зависимой поляризации M1.

зультатов. Было предположено, что HIF-1, как основной регулятор, ответственный за активацию многих генов, кодирующих ангиогенные факторы, может оказать лучший терапевтический эффект, чем только один сосудистый фактор роста. В исследовательских целях был сконструирован рекомбинантный аденовирус AdCa5 с искусственной, постоянно активной формой HIF-1 α . Единичная внутримышечная инъекция препарата, содержащего этот вирус в ишемизированную конечность 8-месячных мышей, была достаточной для улучшения кровотока, но для 13-месячных эффективной была инъекция AdCa5, сопровождающаяся перерывом в 24 ч и последующим внутривенным введением ангиогенных клеток костного мозга (BMDACs), культивированных в течение 4 дней в присутствии сосудистых факторов роста и DMOG (диметилноксалиглицин, конкурентный антагонист α -кетоглутарата, который ингибирует гидроксилазы и индуцирует HIF-1-зависимую транскрипцию). Этапность и способ введения были обусловлены несколькими причинами. Во-первых, AdCa5 индуцирует продукцию ангиогенных факторов, что служит сигналом хоминга для BMDACs (ишемия индуцирует выработку ангиогенных цитокинов и возвращение в исходное состояние происходящих из костного мозга ангиогенных клеток, но эти адаптивные ответы ухудшаются при старении из-за сниженной экспрессии HIF-1 α). Во-вторых, местное введение большого количества клеток в очаг ишемии может увеличить их гибель вследствие гипоксии, в то время как системное введение способствует отбору субпопуляций,

способных к миграции в ишемизированную ткань для участия в ангиогенезе. Введение BMDACs не имело смысла без культивирования вместе с DMOG, т.к. активация HIF-1 в BMDACs имела два важных последствия: первое – стимуляция экспрессии β 2-интегринов, способствующих увеличению адгезии циркулирующих BMDACs к сосудистым эндотелиальным клеткам, таким образом усиливая их закрепление в ишемическом очаге, второе – HIF-1 увеличивал их выживаемость в нем. Терапия была эффективна даже при условии, что и донор BMDAC, и реципиент с ишемией были в возрасте 17-ти месяцев. Это послужило в качестве модели аутологичной BMDAC-терапии для пожилых пациентов с ишемией конечностей [69].

В настоящее время для людей с ишемическими болезнями разрабатываются подходы генной терапии, основанные на внедрении в клетки-мишени активной формы HIF-1 α с использованием вирусного вектора [23].

В России для лечения пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей применяется генный препарат Неоваскулген, разработанный “Институтом стволовых клеток человека” (Москва). Механизм действия препарата основан на проникновении в клетку плазмидной конструкции, которая, не интегрируясь в геном, обеспечивает временный синтез фактора роста VEGF165, который выступает в качестве ауто- и паракринного регулятора роста сосудов *in situ*. Препарат безопасен для пациентов, имеет хорошую переносимость. У пациентов клинической

группы установлено статистически значимое улучшение физического компонента здоровья. После применения препарата “Неоваскулген” при оценке основного (“дистанция безболевого ходьбы”), вторичных критериев эффективности (“лодыжечно-плечевой индекс”, “транскутанно определяемое напряжение кислорода”, “линейная скорость кровотока”) и данным ангиографии было установлено существенное улучшение клинической картины у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей IIа–III ст. по А.В. Покровскому-Фонтейну [9].

Роль HIF в неоваскуляризации

Неоваскуляризация благоприятно сказывается на заживлении ран: рост капилляров происходит из сосудов, для чего в предсуществующие сосуды мигрируют ангиогенные клетки. Здесь HIF-1 α -зависимый выброс цитокинов из раны вызывает мобилизацию и хоминг ангиогенных клеток костного мозга, которые могут участвовать в ангиогенезе как непосредственно, так и стимулировать его паракринно. Относительная гипоксия важна для заживления ран, поскольку обычно играет ключевую роль в регулировании всех критических процессов, связанных с восстановлением тканей. HIF является критическим фактором транскрипции, который регулирует адаптивные ответы на гипоксию. Заживление ран ухудшается с возрастом или при сопутствующих патологиях, например, при сахарном диабете: у молодых мышей линии db/db в эксцизионных ранах экспрессия HIF-1 α была значительно ниже, чем у однопометных мышей без диабета [69].

Показано, что гипергликемия комплексно влияет как на стабильность, так и на активацию HIF-1 α , что приводит к подавлению экспрессии генов-мишеней HIF-1, необходимых для заживления ран как *in vitro*, так и *in vivo*. Блокирование гидроксирования HIF-1 α посредством химического ингибирования, может обратить вспять этот негативный эффект гипергликемии и улучшить процесс заживления ран (то есть грануляцию, васкуляризацию, регенерацию эпидермиса и рекрутирование клеток-предшественников эндотелия). Локальный перенос двух стабильных конструкций HIF с помощью рекомбинантного аденовируса AdCa5 введенного внутримышечно, продемонстрировал, что стабилизация HIF-1 α необходима и достаточна для ускорения заживления ран в условиях диабета [16].

В фибробластах db/db-мышей с гипергликемией активность HIF-1 была снижена, однако это устранялось введением ингибиторов пролилгидроксилазы диметилноксалигицина (DMOG) или дисферриоксиамина, последний улучшал васкуляризацию и заживление ран у db/db-мышей. Внутримышечное введение AdCa5 таким мышам

с лигированной бедренной артерией также улучшало восстановление перфузии и способствовало сохранению конечности. Этот подход был применим для лечения ожоговых ран: у мышей дикого типа с ожоговыми ранами наблюдалось повышение концентрации HIF-1 α в ране, SDF-1 в плазме и циркулирующих BMDACs на 2-ой день, что приводило к васкуляризации и перфузии раны на 7 день. У HIF-1 α ^{+/-}-мышей и старых животных данные реакции были выражены в меньшей степени. После пересадки BMDAC, которые получали от молодых доноров и пересаживали старым реципиентам не наблюдалось улучшения миграции в рану. Хоминг BMDAC был замедленным у донора, и у реципиента если они были нокаутными по HIF-1 α в клеточной линии Tie2 [65].

Роль HIF в восстановлении микроциркуляции в трансплантате

Восстановление микроциркуляции в трансплантате необходимо для улучшения его приживания. Хроническое отторжение (посттрансплантационные реакции “трансплантат против хозяина”) после пересадки легкого сопровождается конструктивным бронхолитом (облитерирующий бронхолит; фиброз дыхательных путей), который влияет на 5-летнюю выживаемость 50% пациентов, что является самым худшим результатом среди трансплантатов. Легкое – это сосудистый регион с интенсивным кровообращением, поддержание гемоперфузии в значениях, близких к нормальным, является критическим фактором для жизнеспособности трансплантата. Данные аутопсии свидетельствуют о том, что облитерирующему бронхолисту предшествует нарушение кровоснабжения дыхательных путей. В ортотопической модели трансплантации трахеи, выполненных на нокаутированных по HIF-1 мышах показал, что HIF-1-зависимый набор реципиентных ангиогенных клеток Tie2+ (одна из субпопуляций циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток) и репарация микроциркуляторного русла дыхательных путей являются критическими детерминантами выживаемости трансплантата. Кроме того, лечение доноров трансплантатов AdCA5 (рекомбинантный аденовирус с искусственной, постоянно активной формой HIF-1 α) до трансплантации, увеличило перфузию, уменьшило фиброз и повысило выживаемость трансплантата. Эти результаты объясняют процесс отторжения трансплантата не только с точки зрения иммунологического механизма, но и с позиции ведущей роли сосудистых реакций на возникающую хроническую или транзиторную ишемию. Разрушение микроциркуляторного русла также является одной из причин хронического отторжения почечных трансплантатов. В аллогенной модели трансплантации почки лечение крыс-

доноров ингибитором пролилгидроксилазы перед пересадкой почки улучшило выживаемость реципиентов. Было показано, что два основных класса иммуносупрессивных препаратов, кальциневрин и ингибиторы мишени млекопитающих для рапамицина (mTOR), блокируют активность HIF-1 в культивируемых клетках (объяснение ниже в разделе “злокачественные новообразования”). Поэтому эти препараты могут оказывать непреднамеренное контртерапевтическое действие на препараты, механизм действия которых связан с регуляцией активности HIF [68].

Ингибиторы mTOR (mammalian target of rapamycin; мишень для рапамицина (Rapamune, Pfizer, USA) и его аналогов (эверолимус, темсиролимус, дактолизиб)) используются для иммуносупрессивной и противоопухолевой терапии. Одним из первых представителей является Рапамицин – метаболит, продуцируемый актиномицетами *Streptomyces rapamycinicus*, *Streptomyces iranensis* и *Actinoplanes*. Помимо описанных выше свойств было обнаружено, что Рапамицин обладает противогрибковой, нейропротективной/нейрогенеративной активностью, а также замедляет старение организма. В настоящее время ведутся исследования, направленные на изучение данного препарата и разработку его аналогов (т.н. рапалоги) с целью снижения побочных эффектов [83].

В клетках и тканях, подверженных гипоксии, нарушение доставки кислорода приводит к снижению выработки энергии и общему подавлению энергозатратных процессов, таких как синтез белка. При тяжелой гипоксии потребность в АТФ для синтеза белка падает примерно до 7% нормоксических клеток, что связано с резким снижением скорости трансляции белка. Зависимое от гипоксии снижение синтеза белка происходит в основном на уровнях инициации трансляции (ограничивает или замедляет скорость трансляции). Гипоксия предотвращает эукариотическую инициацию трансляции по двум различным путям, распространяемым мишенью рапамицина (рапамицина-мишени; mTOR) и стрессочувствительной протеинкиназой R(PKR)-подобной эндоплазматической ретикулум-киназой (PERK) [40].

Участие HIF-1 α в воспалительных процессах

Улучшение микроциркуляции важно при лечении воспалительных заболеваний. Патогенез хронических воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта, таких как болезнь Крона и язвенный колит, включает микрососудистые нарушения и гипоксию тканей. Тяжесть колита, вызванного введением химических или бактериальных токсинов, была выше у мышей нокаутных по *HIF-1 α* . Введение мышам дикого типа DMOG уменьшило тяжесть энтероколита, моделируемо-

го введение химических или бактериальных колитиндуцирующих агентов.

В эпителиальных клетках, модуляция активности HIF или блокирование генов предполагала защитную роль белков HIF при экспериментальном колите мышей. Однако результаты, полученные на мышях с заблокированным HIF-1 α или VHL в кишечном эпителии оказались противоречивыми. В исследовании Karhausen et al. [44], делеция *HIF-1 α* в зрелых энтероцитах (вызванная промотором Fabp) приводила к утяжелению колита, индуцированного тринитробензолсульфатной кислотой (TNBS-индуцированного), тогда как делеция VHL приводила к защите от TNBS-индуцированного колита. Напротив, в других исследованиях сообщается, что делеция *HIF-1 α* в предшественниках эпителиальных клеток кишечника (вызванная промотором VILIN) не оказывала влияния на течение колита (индуцированного декстрансульфатом натрия – DSS), тогда как делеция VHL воспалительный ответ усиливала. Подобные противоречивые результаты могут быть объяснены особенностями химических агентов, используемых в этих двух исследованиях (TNBS и DSS), удаленной клеточной мишенью (зрелые энтероциты против клеток-предшественников) или нацеливанием субъединиц HIF-1 α в организме мышей нокаутных по VHL, разрешение этих противоречий требует дополнительных экспериментов.

Изучение участия HIF-1 α в воспалительных процессах проводилось на более физиологической модели мышинного колита, в которой трансгенные мыши CEABAC10 (экспрессирующие человеческие CEACAM (гликопротеин семейства раково-эмбриональных антигенов, продукт гена человека CEACAM1)) инфицировались вирулентным штаммом AIEC LF82 (адгезивно-инвазивный штамм *Escherichia coli*, штамм LF82). В результате было установлено, что бактерии, ассоциированные с болезнью Крона, повышают уровень HIF-1 α в эпителиальных клетках. Как у мышей, так и у человека было отмечено, что некоторые клетки, связанные с воспалением, содержат HIF-1 α . Этот вывод согласуется с наблюдением, что HIF-1 α , экспрессируемый макрофагами, является важным регулятором врожденного иммунитета [58].

Регуляция иммунного ответа

HIFs и *PHD-2s* и врожденный иммунитет. Макрофаги и нейтрофилы в ответ на гипоксию экспрессируют HIF-1 α и HIF-2 α [50]. Выживаемость в условиях гипоксии позволяет нейтрофилам функционировать в агрессивной среде, однако избыточная активация HIF, приводящая к персистенции нейтрофилов, может способствовать замедлению разрешения воспаления и поврежде-

нию тканей. Для выживания нейтрофилов при гипоксии важен HIF-1 α , в то время как HIF-2 α способствует сохранению активности и выживанию нейтрофилов во время асептического воспаления, что указывает на специфическую роль этих изоформ. Различные профили временной экспрессии с ранней активацией HIF-1 α и отсроченной индукцией HIF-2 α определяют функциональную дивергенцию во время различных фаз воспалительного ответа. Учитывая эту важнейшую роль HIF в выживании и функционировании нейтрофилов, неудивительно, что манипуляции с активностью PHD-2 оказывают важное влияние на выживание и функционирование нейтрофилов. Миелоидно-специфическая генетическая делеция PHD-2 или фармакологическое ингибирование ее активности вызывают усиление воспаления опосредованной нейтрофилами в ответ на инвазию *Streptococcus pneumoniae* и на модели острого повреждения легких, вызванной липополисахаридом (ЛПС). Это происходит из-за избыточной реакции нейтрофилов, с увеличенной миграцией, высокой выживаемостью и активацией гликолиза. Важно отметить, что эти выводы связаны с высокой стабильностью HIF-1 α (обусловлена ингибированием PHD-2). В отличие от этих результатов, блокада PHD-3 в нейтрофилах была связана с уменьшением воспаления. Обнаружено, что как гипоксия, так и стимуляторы воспаления повышают уровни PHD-3 в нейтрофилах (что согласуется с данными, полученными для других типов клеток). Важно отметить, что сохраненная транскрипционная активность HIF, потеря PHD-3 приводила к потере способности к выживанию нейтрофилов в условиях гипоксии. Это важно для уменьшения степени повреждения легких, вызванного ЛПС, и уменьшением воспаления в модели колита [75].

Роль HIFs и PHD-2s в адаптивном иммунитете

HIF/PHD-2 в T-клетках. Гипоксия, воспалительная среда и метаболический фенотип участвуют в регуляции количества и функций CD4⁺ T-клеток. В экспериментальных исследованиях гипоксия и HIF-1 α были определены в качестве позитивных регуляторов развития Th17 (клетки T-хэлперы 17 типа), которые представляют собой подмножество провоспалительных клеток T helper, определяемых по их продукции интерлейкина 17 (IL-17) и по множеству механизмов: усиление гликолиза, активация ключевого фактора транскрипции ROR γ t и деградация фактора транскрипции Treg FOXP3 (Treg – регуляторные T-лимфоциты, которые поддерживают толерантность к собственным антигенам, Treg являются иммуносупрессивными и обычно подавляют индукцию и пролиферацию эффекторных T-клеток;

ROR отвечает за транскрипцию и развитие Th17, а FOXP3 за семейство Treg).

Как было сказано выше, VHL обладает активностью убиквитинлигазы E3 и отвечает за нацеливание HIF-1 α на убиквитин-опосредованную деградацию после гидроксирования. Потеря VHL (и накопление HIF-1 α) у Treg привели к нарушению функции Treg и потере FOXP3 в результате HIF-1 α -опосредованной экспрессии IFN- γ и перехода Treg к более воспалительному фенотипу TH1. В отличие от этих результатов, Clambey с соавт. [22] обнаружили, что гипоксия и HIF-1 α способствуют транскрипции FOXP3. В целом, эти данные предполагают, что активация HIF-1 α способствует развитию TH17 по сравнению с дифференцировкой Treg, но HIF-1 α также необходим для оптимального развития и функционирования Treg. Недавнее исследование, изучающее роль мРНК в Treg, также идентифицировало HIF-2 α в качестве потенциального негативного регулятора развития Treg. Таким образом и HIF-1 α (является основной), и HIF-2 α являются важными изоформами этого белка (рис. 4) [75].

HIF-1 является критическим фактором фенотипа сепсиса, благодаря участию в продуцировании провоспалительных цитокинов, приводящих к тахикардии, гипотензии и гипотермии. Инокуляция живых или неактивных грамположительных бактерий в макрофаги индуцировала HIF-1 α , в то время как мыши с дефицитом миелоидного HIF-1 были устойчивы к грамположительным бактериям в условиях эндотоксемии. Блокирование PHD-3, фермента, ответственного за деградацию HIF, значительно сократила выживаемость мышей с моделью абдоминального сепсиса из-за сниженного врожденного иммунного ответа. Повышенная провоспалительная активность у этих мышей коррелирует с усилением стабилизации белка HIF-1 α в макрофагах. В совокупности эти данные показывают, что HIF-1 α вносит вклад в негативную роль макрофагов в патологии сепсиса. Фармакологическое ингибирование HIF-1 α с использованием 2-метоксиэстрадиола защищало мышей от сепсиса, вызванного ЛПС и CLP. Подавленная продукция iNOS/NO и цитокинов, индуцированная HIF-1 α , была обнаружена в перитонеальных макрофагах, что свидетельствует о важной роли миелоидного HIF-1 α в выживаемости клеток и организма при сепсисе. Можно сделать вывод, что HIF влияет на исход сепсиса, определяя его тяжесть и летальность, чем его больше, тем они выше [30].

Динамические изменения в экспрессии HIF происходят во время сепсиса, который оказывает существенное влияние на выработку цитокинов, метаболизм, адаптацию клеток и клиническую симптоматику. Поэтому HIF рассматривается в

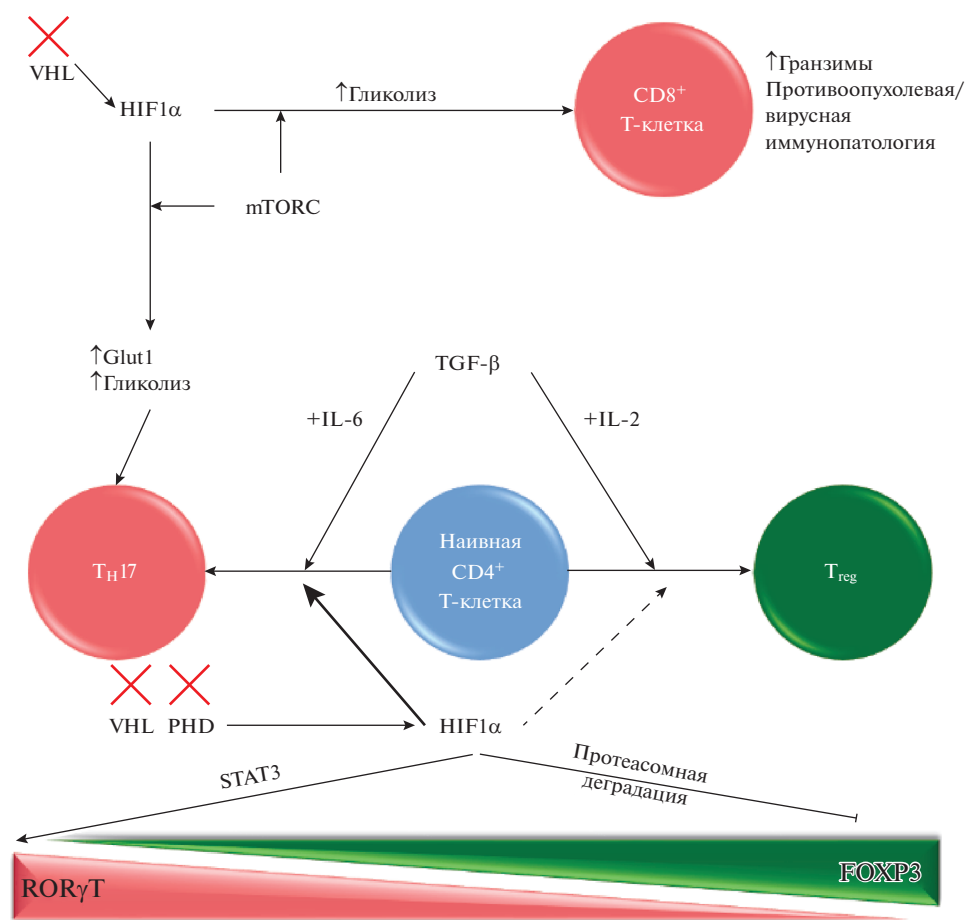


Рис. 4. Влияние HIF на CD4 + и CD8.

Описание рисунка: CD4+ и CD8+ T-клетки также поляризуются и активируются изоформами HIF. TGF- β необходим для разработки как TH17, так и Treg. IL-2 способствует развитию Treg, тогда как IL-6 способствует развитию TH17. Хотя некоторые данные указывают на то, что HIF-1 α необходим для функции Treg (пунктирная стрелка), общая активация HIF-1 α способствует воспалительной поляризации TH17 (толстая стрелка) за счет активации ROR γ T посредством активности STAT3 и подавления (посредством протеасомной деградации) FOXP3. HIF-1 α также активирует CD8 + цитотоксические T-клетки, что приводит не только к увеличению производства гранзима и усилению противовирусной и противоопухолевой активности, но также к усилению иммунопатологии. Опять же, метаболизм играет ключевую роль в поляризации, а активность HIF-1 α усиливает гликолиз и поглощение глюкозы, способствуя провоспалительным реакциям. Сокращения: mАФК, митохондриальные активные формы кислорода; STAT3, преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3; TH17, T helper 17 cell; Treg, регуляторная T-клетка.

качестве потенциального биомаркера при сепсисе, хотя его роль остается спорной.

Функционально активные генетические варианты в *HIF-1 α* и *PHD-2* могут влиять на экспрессию мРНК *HIF-1 α* . Однако они не являются независимыми факторами риска 30-дневной смертности при тяжелом сепсисе. В настоящее время завершено клиническое исследование потенциала HIF-1 α в качестве нового биомаркера тяжести септического шока, и данные по первичным исходам еще не опубликованы. Использование HIF в качестве биомаркера может быть осложнено, учитывая его дифференцированную роль в зависимости от типа клеток, но этот фактор предложен в качестве потенциальной терапевтической мишени при сепсисе [URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02163473>].

Однако до настоящего времени исследования были сосредоточены на косвенном таргетировании HIF. Эдаравон – индуцирующий HIF-1 α препарат, который подавляет окислительный стресс и защищает сердце от септической травмы и дисфункции миокарда. Дальнейшие исследования с использованием специфических ингибиторов HIF потребуются для полного выяснения потенциала этого сигнального пути в качестве терапевтической мишени при сепсисе [30, 61].

Во многих фармацевтических и биотехнологических компаниях были инициированы программы поиска лекарственных средств для разработки ингибиторов пролилгидроксилазы (PHI), которые, как описано выше для DMOG, индуцируют

активность HIF для лечения расстройств, при которых HIF опосредует защитные физиологические реакции.

СОСТОЯНИЯ, ПРИ КОТОРЫХ ПОВЫШЕНИЕ АКТИВНОСТИ HIF И ЕГО НАКОПЛЕНИЕ НЕЖЕЛАТЕЛЬНО

Эритроцитозы состояния, сопровождающиеся повышенным количеством эритроцитов, что обусловлено чрезмерной активацией гена эритропоэтина. Были идентифицированы лица с избыточной продукцией эритроцитов из-за мутаций зародышевой линии в генах, кодирующих VHL, PHD-2 и HIF-2 α , демонстрируя существенную роль этого пути в регуляции эритропоэза. Эти мутации нарушают гидроксигирование и убиквитинирование, тем самым повышая уровни HIF-1 α и HIF-2 α при любом заданном парциальном давлении O₂ (PO₂). У людей появлялись глобальные физиологические изменения, которые включали измененные вентиляционные и легочные сосудистые реакции на гипоксию, а также измененные метаболические реакции на физические нагрузки [69].

Злокачественные новообразования

Злокачественные новообразования (при которых, васкуляризация и адаптация к гипоксии ишемизированных очагов опухоли нежелательна) включают гипоксические области, формирующиеся из-за высоких темпов пролиферации клеток в сочетании с образованием сосудистой сети, которая является структурно и функционально ненормальной и не способна обеспечить адекватную гемоперфузию, в результате чего вначале формируется область ишемии, переходящая в некроз. Повышенные уровни HIF-1 α или HIF-2 α в диагностических биопсиях опухоли связаны с высоким риском смерти при онкологии мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, толстой кишки, шейки матки, эндометрия, головы/шеи, легких, яичников, поджелудочной железы, простаты, прямой кишки или желудка. Экспериментальные методы, повышающие экспрессию HIF-1 α , приводили к увеличению роста опухоли, тогда как потеря активности HIF приводит ее ограничению. HIF могут активироваться генетическими изменениями при онкологии у человека, сопровождающимися потерей функции VHL. Учитывая обширную валидацию HIF-1 в качестве потенциальной терапевтической мишени, были идентифицированы препараты, ингибирующие HIF-1, и показано, что на моделях ксенотрансплантата они оказывают противоопухолевое действие (рис. 5).

В США более 100 женщин каждый день умирают от рака молочной железы. Среднее значение pO₂ при раке молочной железы составляет 10 мм рт. ст.

по сравнению с >60 мм рт. ст. в нормальной ткани молочной железы. Сниженное pO₂ связано с повышенным риском метастазирования и летальности. Высокие уровни белка HIF-1 α , выявленные при биопсии опухолей иммуногистохимическими методами, ассоциированы с повышенным риском метастазирования (метастазирование предполагает >90% смертности от рака молочной железы) и летального исхода у пациенток с раком молочной железы. Роль HIF-1 α при метастазировании рака молочной железы была изучена на модельных организмах (у трансгенных мышей, склонных к спонтанно возникающим опухолям) и при проведении ортотопических трансплантаций (инъекции клеток рака молочной железы человека в жировую ткань молочной железы) у иммунодефицитных мышей. Первичные опухоли производят рекрутинг клеток костного мозга в легкие и другие места метастазирования. При опухоли молочной железы гипоксия индуцирует экспрессию лизилоксидазы, секретируемого белка, который ремоделирует коллаген в местах образования метастатической ниши [28]. В дополнение к LOX, онкология молочной железы запускает секрецию LOX-подобных протеинов 2 и 4, которые вместе с LOX кодируются генами, экспрессия которых регулируется в том числе и HIF-1. Ингибирование HIF-1 блокирует образование метастатической ниши, независимо от того, какой белок LOX/LOXL экспрессируется, в то время, как применение доступных ингибиторов LOX оказалось неэффективным из-за их высокой селективности только к LOX, в то время как для достижения эффекта необходима блокада всех белков LOXL [79]. Эти результаты иллюстрируют роль HIF-1 как главного регулятора, который контролирует экспрессию нескольких генов, участвующих в одном (патофизиологическом) процессе [70]. Таким образом, в раковых клетках под действием HIF-1 экспрессируется LOX и ряд LOX-подобных протеинов, ремоделирующих коллаген и создающих т.н. преме-метастатическую нишу (когда туда попадают раковые клетки, ниша становится метастатической).

Несмотря на то, что роль HIF в патогенезе злокачественных новообразований очевидна, есть данные, что она не первостепенна: большую значимость отводят белку mTOR, как главному регулятору клеточного роста и пролиферации, который также регулирует и активность HIF независимо от гипоксии (рис. 6). Блокирование mTOR также снижает и продукцию HIF, даже в условиях гипоксии (*in vitro*). При переносе данных результатов на модели *in vivo* (подкожный ксенотрансплантат *nude*-мышам) было обнаружено, что ингибирование mTOR вызывает значительное снижение роста опухолей различного происхождения в основном за счет торможения клеточной пролиферации. Более того, данный эффект



Рис. 5. Группы препаратов, которые действуют на HIF-1 α или его эффекты.
 Объяснение рисунка. Терапевтический подход, предполагающий ингибирование HIF на одном или нескольких уровнях регуляции, представляется целесообразным, поскольку HIF активируют транскрипцию генов, которые играют ключевую роль в критических аспектах онкобиологии, включая: поддержание стволовых клеток, выживание клеток, эпителиально-мезенхимальный переход, генетическая нестабильность, васкуляризация, метаболизм глюкозы, регулирование pH, иммунное уклонение, инвазия и метастазирование, а также радиорезистентность.

может быть получен независимо от уровня HIF в опухолевой клетке. Концентрация HIF может не зависеть от активности mTOR, вероятно, из-за клеточного микроокружения: стойкая гипоксия ведет к прочной стабилизации HIF (альфа-субъединица не подвергается деградации; чем она стабильнее, тем больше накапливается и объединяется с бета-субъединицей). Таким образом, эффективное лечение злокачественных новообразований может не затрагивать его активность, т.е. активность HIF может не влиять на эффективность противоопухолевой терапии [46].

Легочная гипертензия

Легочная гипертензия (избыточная васкуляризация вследствие длительной гипоксии и гипертрофии правого желудочка) также является состоянием, при котором нежелательно повышение экспрессии (усиление сигналинга) HIF-1 α

[62]. Длительное воздействие альвеолярной гипоксии, возникающей у пациентов с хроническими заболеваниями легких, приводит к ремоделированию легочной сосудистой системы и повышению легочного артериального давления, а также гипертрофии правого желудочка. В исследовании были идентифицированы множественные целевые гены HIF-1 α , которые играют ключевую роль в ответе гладкомышечных клеток легочной артерии на гипоксию. Так *HIF-1 α ^{+/-}* и *HIF-2 α ^{+/-}* мыши защищены от гипоксической легочной гипертензии, что указывает на то, что HIF-1 α и HIF-2 α играют ключевую патогенную роль. HIF также вовлечен в химически индуцированные и генетические формы легочной артериальной гипертензии, при которых гипоксия не являлась этиологическим фактором.

Большое количество доказательств показывает, что устойчивая гипоксия окружающей среды может вызывать легочную гипертензию через

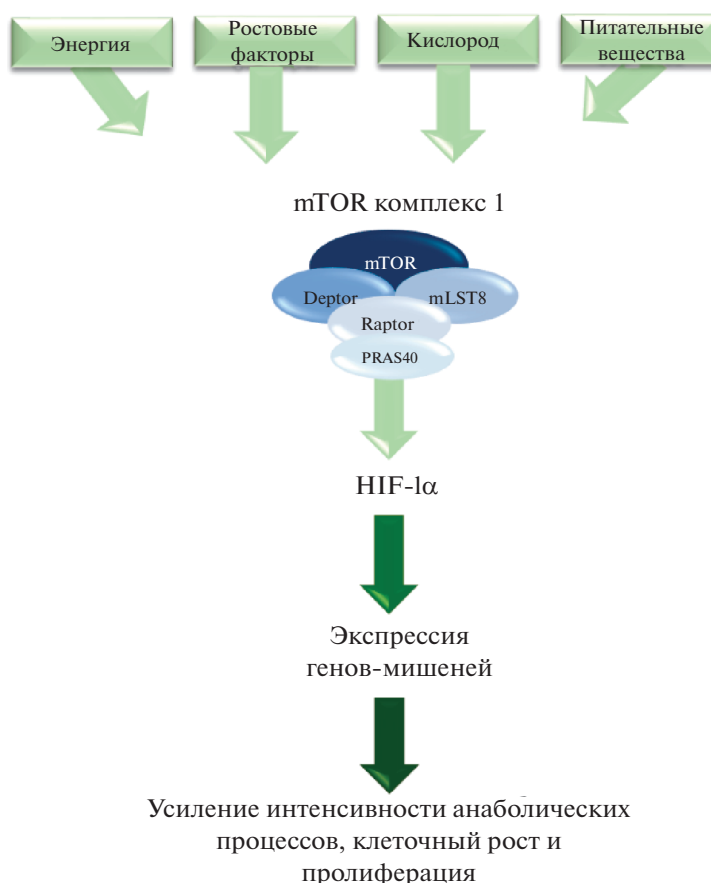


Рис. 6. Влияние mTOR на регуляцию активности HIF-1.

Активация mTOR может быть вызвана несколькими регуляторами, активированный mTOR также увеличивает трансляцию HIF-1 α , который в свою очередь усиливает экспрессию нижестоящих генов-мишеней.

HIF-опосредованный путь. Действительно, первые доказательства роли HIF в легочной гипертензии *in vivo* получены на животных, дефицитных по HIF. У мышей с гетерозиготной делецией зародышевой линии *HIF-1 α* или *HIF-2 α* с подверженной хронической гипоксией, наблюдалось нарушение развития легочной гипертензии, частично из-за ограниченных возможностей ремоделирования сосудов легких. Роль HIF в развитии легочной гипертензии доказаны результатами исследований патологических наследственных мутаций, приводящих к гиперактивации HIF. Гомозиготность по аллелю VHL, содержащему мутацию R200W, которая разлагает субъединицы HIF-1 α менее эффективно, чем нормально функционирующий VHL, связана с HIF-2 α -зависимой полицитемией и легочной гипертензией. Кроме того, мутация, приводящая к усилению функции HIF-2 α (G537W у человека или G536W у мышей), стала причиной развития более тяжелой легочной гипертензии с сопутствующим обострением эритроцитоза. Эти первоначальные исследования выявили вклад HIF в развитие гипертонической болезни. Более поздние исследования

in vivo позволили по-новому взглянуть на вклад изоформ HIF-1 α и HIF-2 α в развитие легочной гипертензии, а также определить последующие HIF-зависимые события, относящиеся к этому патологическому сценарию [73].

Обструктивное апноэ во сне

Обструктивное апноэ во сне (чередующиеся состояния гиперкапнии и гипоксии ведут к накоплению АФК, а увеличение катехоламинов и симпатическая стимуляция ведут к гипертензии) обусловлено западением мягких тканей глотки и закупориванием дыхательных путей, что ведет к снижению парциального давления кислорода в крови. Эта гипоксемия ощущается хеморецепторами синокаротидной зоны, что приводит к возбуждению, очищению дыхательных путей и реоксигенации. Цикл гипоксии и реоксигенации за ночь повторяется десятки раз и приводит к повышению уровня АФК в синокаротидной зоне и головном мозге. Симпатическая активация и повышение концентрации катехоламинов в плазме приводят к системной гипертензии (рис. 7а). Об-

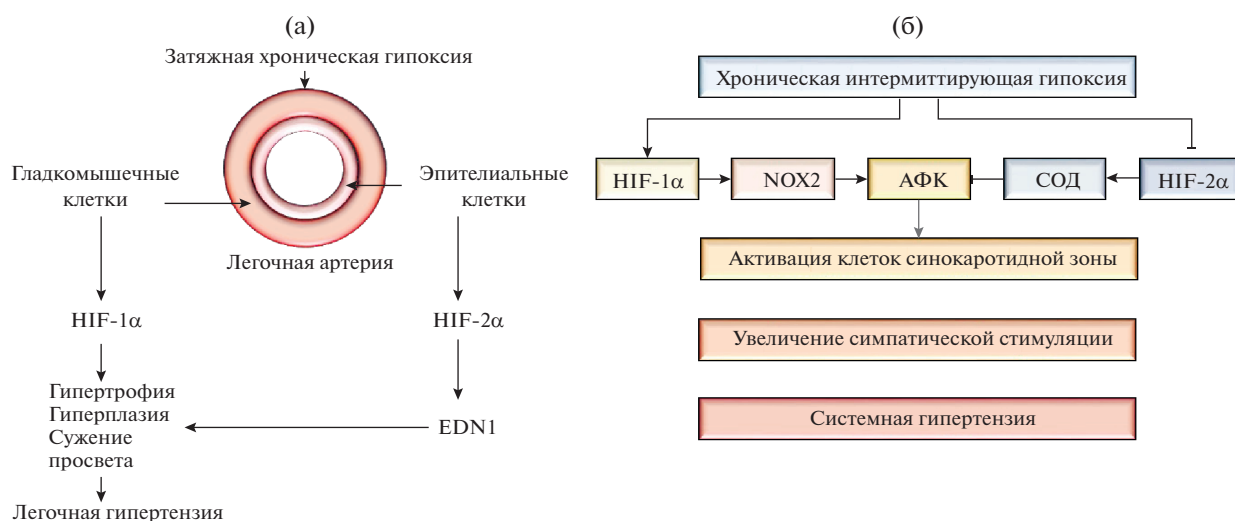


Рис. 7. Нарушение баланса изоформ HIF при хронической интермиттирующей гипоксии. Описание в тексте.

структивное апноэ во сне связано как с гипоксией, так и с гиперкапнией, но воздействие на грызунов хронической прерывистой/интермиттирующей гипоксии (ХИГ) достаточно, чтобы вызвать гипертонию. Лечение мышей сквенджером супероксида Mn TMRyP (миметик супероксиддисмутазы) преграждает опосредованные хронической интермиттирующей гипоксией увеличение HIF-1α, катехоламинов и артериального давления (АД), показывая, что АФК участвует в нисходящей регуляции синтеза HIF. Однако, у *HIF-1α^{+/-}* мышей отсутствуют ХИГ-опосредованные увеличения АФК, катехоламинов и АД, предполагая, что HIF-1 участвует в восходящей регуляции АФК, таким образом демонстрируются спорные данные по поводу того, что первично: накопление АФК активирует HIF или наоборот. Подтверждена прямая связь индукции HIF-1α через образование АФК, что приводит к транскрипции Nox2-гена, кодирующего НАДФ-оксидазу, вызывающую генерацию супероксидных радикалов. HIF-1α в низких концентрациях экспрессируется в каротидных тельцах в нормоксических условиях (нормальном PO₂) и индуцируется хронической интермиттирующей гипоксией. Напротив, экспрессия HIF-2α высока в каротидных тельцах в нормоксических условиях и снижается из-за кальпаин-зависимой деградации в ответ на ХИГ. Снижение уровня HIF-2α связано со снижением экспрессии гена *Sod2*, который кодирует митохондриальную супероксиддисмутазу, преобразующую супероксидный анион-радикал в пероксид водорода. Введение подверженным ХИГ крыс ингибитора кальпаина блокирует деградацию HIF-2α, восстанавливает активность супероксиддисмутазы (SOD2), предотвращает окислительный стресс и гипертензию. Таким образом,

нарушение баланса между уровнями HIF-1α и HIF-2α в каротидных тельцах играет ключевую роль в патогенезе гипертензии, индуцированной ХИГ. Постоянная гипоксия индуцирует HIF-1α и HIF-2α, что приводит к легочной гипертензии, тогда как ХИГ индуцирует HIF-1α, но ингибирует HIF-2α, что приводит к системной (артериальной) гипертензии. Когда изолированные каротидные тельца от мышей дикого типа перфузируются гипоксической газовой смесью, повышается деполаризация O₂-чувствительных гломусных клеток и активность каротидного синусового нерва, но эти ответы отсутствуют в каротидных тельцах, полученных от *HIF-1α^{+/-}* мышей. Напротив, каротидные тельца от *HIF-2α^{+/-}* мышей имеют более выраженный ответ к острой гипоксии, что сопровождается увеличением концентрации катехоламинов и АД в нормоксических условиях. MnTMRyP лечение *HIF-2α^{+/-}* мышей нормализует артериальное давление и реакцию клетки синокаротидной зоны. Таким образом, даже в нормоксических условиях баланс между HIF-1α и HIF-2α контролирует функцию клеток синокаротидной зоны и сердечно-сосудистый гомеостаз.

Функциональный антагонизм. HIF 1 изоформа отвечает за негативные проявления, а 2 изоформа их блокирует. В норме между ними и есть функциональный антагонизм, который нарушается при апноэ. Хроническая прерывистая гипоксия приводит к системной артериальной гипертонии из-за активации HIF-1α и деградации HIF-2α. Повышенная HIF-1α-зависимая экспрессия NADPH-оксидазы 2 (NOX2), которая генерирует супероксид-анион, и пониженная HIF-2α-зависимая экспрессия супероксид-дисмутазы 2 (SOD2), которая потребляет супероксид, приводят к повышению уровня АФК в теле сонной ар-

терии и активации симпатической нервной системы и системной гипертензии (рис. 76). Эти результаты дают новое представление о логике, лежащей в основе приобретения паралога HIF-1 α во время эволюции позвоночных [63, 68].

Вышесказанное становится особенно актуальным, если учесть, что синдром обструктивного апноэ является распространенным и может быть не только независимым фактором риска формирования заболеваний сердечно-сосудистой системы, но и отягощать другие патологические процессы [8].

Диабет

Нарушение реакции крупных сосудов на ишемию — болезнь коронарных и периферических артерий, мелких — на повреждение кожи в той или иной степени являются следствием снижения активности HIF. Однако диабет также связан с чрезмерной пролиферацией мелких сосудов (т.е. глазной неоваскуляризацией) и HIF-1, по-видимому, играет ключевую роль в патогенезе этого осложнения.

Сахарный диабет (СД) — это группа метаболических (обменных) заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, которая является результатом нарушения секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. Хроническая гипергликемия при СД сопровождается повреждением, дисфункцией и недостаточностью различных органов, особенно глаз, почек, нервов, сердца и кровеносных сосудов [1]. Гипергликемия часто связана с явлением, называемым псевдогипоксией, которое характеризуется повышенным соотношением NADH/NAD⁺ из-за увеличенного потока глюкозы через полиольный путь. В условиях гипоксии дисбаланс возникает в результате нарушения окисления НАДН [18].

При снижении транспорта глюкозы в клетки, в них возникает состояние псевдогипоксии, при этом изменений в количестве NADH и NAD⁺ не происходит, что было обнаружено при сравнении изолированных сетчатки полученной от крыс с диабетом и без него. Исследования с применением пимонидазола (связывается с тиолсодержащими белками, особенно в гипоксических клетках, применяется для качественной и количественной оценки гипоксии), маркера гипоксической ткани, показывают повышенные уровни гипоксии в ткани животных с диабетом, а экспрессия мРНК HIF-1 α в их сердце была выше. На уровне белка HIF-1 α стабилизируется не только гипоксией, но и продуктами аэробного гликолиза, главным образом пируватом. Гипергликемия влияет на трансактивацию HIF-1 посредством модификации его коактиватора p300 и, таким образом, уменьшает

транскрипционную активность HIF-1 (p300 — коактиватор, помогает HIF “сесть” на нужный участок; гипергликемия влияет на p300, не влияя на α 1-субъединицу), не влияя на стабильность белка HIF-1 α . Гипергликемия активирует HIF-1-опосредованную сигнальную трансдукцию через белок, реагирующий на глюкозу, отвечающий за углеводный элемент (ChREBP), что было показано на модели диабетической гломерулопатии [39].

ChREBP играет функциональную роль в гликолитической и липогенной регуляции генов. Эксперименты с клетками, культивируемыми в среде, сочетающей гипергликемию и гипоксию, показывают повышенную деградацию белка HIF-1 α . Таким образом, диабет не только вызывает гипоксию, но также нарушает передачу сигналов HIF-1. Неспособность клеток/тканей адекватно реагировать на гипоксию увеличивает риск осложнений у пациентов с диабетом. Например, у крыс с диабетом, индуцированным стрептозотоцином, экспрессия мРНК HIF-1 α ниже, а размер инфаркта миокарда выше, чем у животных с нормогликемией [37].

Гипергликемия вызывает клубочковую гиперфильтрацию и увеличивает канальцевую реабсорбцию натрия и глюкозы через SGLT, которые усиливают натрий-калий-АТФазную активность, что приводит к увеличению потребности в кислороде. Таким образом, проксимальные канальцевые клетки в диабетической почке подвержены хронической гипоксии и высокой экспрессии HIF-1 α . Стабильная экспрессия HIF-1 α в трубчатых эпителиальных клетках приводит к тубулоинтерстициальному фиброзу. Кроме того, ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), основной ген-мишень HIF-1, также является важным фактором для прогрессирования фиброза почек, и в специализированных исследованиях показано, что нокаутирование по гену, кодирующему PAI-1, облегчает течение диабетической нефропатии у мышей [14].

В другом исследовании, проведенном Т. Cai с соавт. [17], на образцах почки человека с СД или мыши с воспроизведенной моделью СД авторы обнаружили, что развитие диабетической почечной недостаточности и прогрессирование почечного фиброза повлекло за собой глубокие изменения в метаболизме проксимальных канальцев, характеризующиеся переключением с утилизации жирных кислот на гликолиз и накопление липидов, что связано с повышенной экспрессией HIF-1 α . Добавление дапаглифлозина к клеточной культуре (2 мкмоль/л) устраняло повышенный уровень HIF-1 α в проксимальных канальцах почек. Также дапаглифлозин защищал от индуцированного глюкозой метаболического сдвига в РТС (Primary tubular epithelial cells) посредством ингибирования HIF-1 α , что может быть одним из

механизмов нефропротекторного действия ингибиторов SGLT2 при сахарном диабете.

Профибротический эффект HIF-1 оказывает за счет активизации лизилоксидаз. Тубулоинтерстициальная гипоксия обусловлена гломерулосклерозом и разрежением капилляров, которое обычно встречается в почках пациентов с хронической болезнью почек (ХБП). Вследствие гипоксии в эпителиальных клетках почек HIF-1 α стабилизируется, что приводит к повышенной экспрессии генов лизилоксидазы и других профибротических факторов, способствуя тем самым ЭМТ (epithelial-mesenchymal transition – эпителиально-мезенхимальный переход) и накоплению ЕСМ (extracellular matrix – внеклеточный матрикс).

Почечный эпителиальный HIF-1 α является фиброгенным на модели хронического повреждения почек и, таким образом, оказывает стимулирующее действие на болезнь. Это открытие противоречит его предполагаемой цитопротекторной роли при острых и хронических ишемических повреждениях и предполагает, что HIF-1 может играть специфическую для контекста и/или типа клеток биологическую роль в отношении исхода заболевания почек [35].

HIF–VEGF

HRM (реагирующие на гипоксию РНК) представляют собой специфическую группу микроРНК, которые регулируются гипоксией. Недавние исследования показали, что несколько HRM, включая микроРНК семейства let-7, были высоко индуцированы в ответ на активацию HIF при гипоксии, и они участвовали в ангиогенезе путем взаимодействия с AGO1 (argonaute1) и положительной регуляцией VEGF. Клетки, находящиеся в гипоксической среде, сигнализируют о необходимости стимулировать рост новых кровеносных сосудов, чтобы получить больше кислорода и питательных веществ. HIF-1 при гипоксии ускоряет высвобождение проангиогенных цитокинов, таких как VEGF, основной индуктор ангиогенеза. Промежуточные сигнальные события, связывающие HIF-1 и VEGF, строго контролируются микроРНК (miR), которые являются эндогенными некодирующими молекулами РНК в пути HIF–miR–VEGF [87, 91].

МикроРНК (miRs) представляют собой эндогенные небольшие некодирующие молекулы РНК (~22 нуклеотида), которые обеспечивают экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. РНК-полимеразы II и III образуют в транскрипции генов микроРНК с образованием первичных транскриптов miR (pri-miRs), которые обычно имеют длину в несколько сотен нуклеотидов и содержат консервативные шпильки. Эти pri-

miRs процессируются ферментом RNase III Drosha в промежуточные шпильки (~60–70 нуклеотидов), которые называются предшественниками miRs (pre-miRs), и pre-miRs активно транспортируются из ядра через нуклеоцитоплазматический челнок Экспортин-5 (XPO-5) с помощью GTP-связывающего ядерного белка Ran. Пре-miRs в цитоплазме расщепляется другим ферментом RNase III Dicer (рибонуклеаза) для превращения в miR-дуплексы, которые затем включаются в РНК-индуцируемый комплекс выключения (сайленсинга) гена (miRISC). Внутри miRISC белки семейства аргонавтов (AGO) необходимые для функции miR у человека, поскольку они способствуют активации miRISC, катализируя диссоциацию ведущей цепи miR (зрелого miR) из сопутствующей цепи (расщепляемой позднее); только AGO1 и AGO2 из восьми белков AGO у человека могут опосредовать такую диссоциацию цепи во время созревания miR. Идентифицировано, что AGO1 связано с miR-опосредованной трансляционной репрессией; однако только AGO2-содержащий RISC способен катализировать расщепление мРНК-мишеней. Хотя в предыдущих исследованиях подробно изучалась роль AGO в координации деятельности miRISC, существует недостаточно информации об экспрессии AGO в ответ на клеточный стресс и его физиологическом значении для ремоделирования сосудов [49].

Было подтверждено, что многие miRs связаны с патофизиологией различных сердечно-сосудистых заболеваний. Поскольку эндотелиоциты контролируют образование новых кровеносных сосудов (ангиогенез), что является критическим для сосудистого гомеостаза, дисфункция эндотелия в ответ на неблагоприятные гемодинамические изменения и патологические стимулы, такие как воспаление или хроническая гипоксия, может привести к неадекватному или аномальному ангиогенезу. Это предрасполагает к развитию многих сосудистых заболеваний, включая PAD (заболевание периферических артерий) и CAD (заболевание коронарной артерии). Семейство микроРНК let-7 (lethal-7) является одним из наиболее многообещающих кандидатов miR в качестве новых регуляторов ангиогенеза, учитывая его высокую экспрессию в эндотелиоцитах, и оно напрямую нацелено на некоторые факторы, связанные с ангиогенезом, такие как TSP-1 (тромбоспондин 1), TIMP-1 (тканевой ингибитор металлопротеиназы 1) и TGFBR1 (трансформирующий фактор роста β рецептор-1). В своей работе Chen Z. с соавт. показали, что сигнальный путь HIF-1–let-7–AGO1–VEGF важен для контроля ангиогенеза эндотелиальных клеток при гипоксии. Члены семейства let-7 miR идентифицированы как HRM (микроРНК, реагирующие на гипоксию), уровни которых сильно повышены с

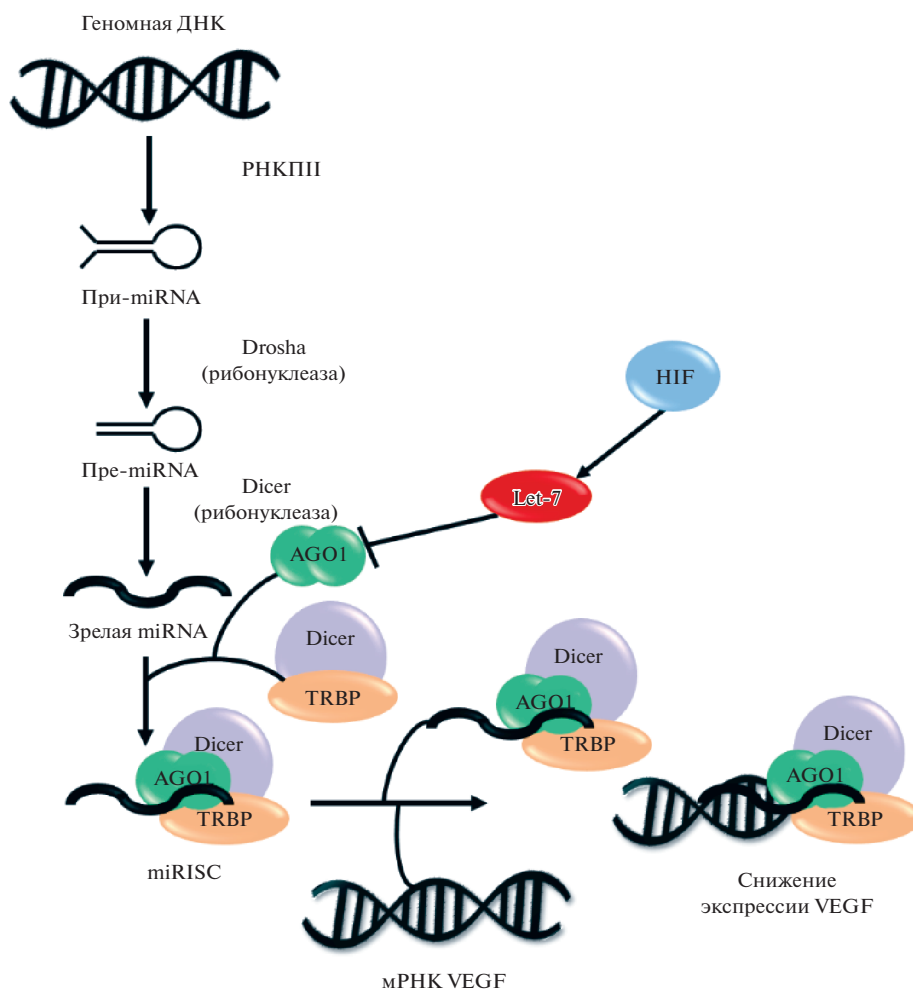


Рис. 8. Путь HIF–VEGF. Описание в тексте.

помощью фактора транскрипции HIF-1 при гипоксии. Зрелый let-7 нацеливается на мРНК AGO1 и снижает уровень miRISC, образуемый AGO1 и другими miRs, которые нацелены на VEGF, следовательно, освобождая VEGF от трансляционной репрессии, чтобы способствовать ангиогенезу. Подтвержденные экспериментами *in vitro* и *in vivo*, эти данные подтверждают аргумент важной ангиогенной оси, соединяющей HIF, miRs и AGO1 в ЕС, которые могут потенциально служить ценной мишенью для про- и антиангиогенной терапии. При нормоксии из-за взаимодействия с miRISC мРНК VEGF недоступна для трансляции. Активированный при гипоксии HIF-1, индуцировал биогенез let-7, что приводило к подавлению образования мРНК AGO1, белка и miRISC, что активировало трансляцию мРНК VEGF (рис. 8) [20].

С помощью сконструированной компьютерной модели были определены различные характеристики в клеточных механизмах определения кислорода и в регуляторной сети miR, которая

контролирует канонический путь HIF–VEGF. Модель предсказывает, что стабилизация HIF-1 α подчиняется гипотетическому переключаящему режиму и отрицательно регулируется дестабилизатором мРНК при гипоксии. Чтобы продемонстрировать, на чем сфокусировано исследование, было показано, что let-7 и AGO1 являются инициаторами и координаторами высвобождения VEGF, в то время как они оказывают отрицательное влияние на контроль обратной связи друг на друга и способны минимизировать влияние возможных внешних возмущений; также иллюстрирована роль miR-15a в качестве конечной эффекторной молекулы, которая находится под контролем AGO1, поскольку обилие miR-15a напрямую определяет, сколько мРНК VEGF доступно для трансляции. Вместе эти результаты показывают интегрированное изображение множества miR, каждый с разными мишенями, которые работают совместно с miR-процессирующими белками (например, Dicer, AGO1), чтобы противодействовать неблагоприятным физиологическим стресс-

сам путем стимулирования синтеза VEGF и ангиогенеза [86].

В настоящее время модель рассматривает let-7 и miR-15a в качестве ключевых регуляторов miR процесса подавления VEGF, вызванного гипоксией. Продукция miRs в модели следовала хорошо установленному пути биогенеза miR, который подвергается транскрипции, ядерно-цитоплазматическому транспорту, эндонуклеолитическому процессингу и загрузке miRISC. Модель объединяет процессинг Drosha и транспорт XPO-5 в одностадийную реакцию, и образование miRISC вместе с диссоциацией дуплекса miR упрощается как один обратимый процесс ассоциации между белком AGO1 и miR. Комплекс, образованный белком AGO1 и let-7, может возвращаться в ядро и стимулировать процессинг pri-let-7, который составляет положительную ауторегуляторную петлю. Let-7 подавляет трансляцию двух целей, AGO1 и Dicer, и этот сайленсинг негативно влияет на созревание и стабилизацию let-7. МРНК AGO1 и Dicer обрабатываются с помощью let-7 miRISC и направляются в цитоплазматические домены, называемые р-телами (содержат белки, участвующие в различных посттранскрипционных процессах, таких как деградация мРНК, нонсенс-опосредованный распад мРНК (NMD), репрессия трансляции и РНК-опосредованное замалчивание генов). Поскольку обнаружено, что р-тела участвуют в общем обороте мРНК, было предположено, что, как только мРНК попадут в р-тела, они будут сохранены, недоступными для трансляции со значительно более медленной скоростью деградации по сравнению с таковой цитоплазматических мРНК, в то время как очень малая часть из них все еще может выйти из р-тел и снова войти в трансляционный механизм. Поскольку ось let-7/AGO1 будет влиять на экспрессию группы miRs, приводящую к измененной динамике многих генов-мишеней, мы выбрали VEGF, поскольку он играет решающую роль в ангиогенезе и обширной поддержке литературных данных, в качестве гена для механистической демонстрации детали того, как этот каскад контролирует специфическую экспрессию генов во время проангиогенного ответа. Для текущих целей модели miR-15a выбран для представления группы VEGF-нацеливающих miRs, поскольку miR-15a была экспериментально подтверждена для прямой репрессии синтеза VEGF и заметно влияет на ангиогенез в ЕС [86, 87]. Кроме того, показано, что гипоксия ослабляет ассоциацию AGO1 со многими направленными на VEGF мишенями, включая miR-15a, и вызывает значительное подавление этих miR. Эти данные дополнительно связывают динамику miR-15a с координацией по оси let-7/AGO1. МРНК VEGF, на которые нацеливается miR-15a, также проходят серию этапов, включающих хранение р-тела,

сходное с механизмом let-7-обеспечиваемого молчания мРНК [88].

ПРЕДСТАВИТЕЛИ HIF-ПРОТЕКТОРОВ

Во многих фармацевтических и биотехнологических компаниях иницированы программы обнаружения лекарственных средств для разработки ингибиторов пролилгидроксилазы, которые индуцируют активность HIF. Локальная и кратковременная индукция активности HIF с помощью ингибиторов пролилгидроксилазы, генной терапии или других средств, вероятно, будет перспективной для лечения многих из обозначенных выше заболеваний. В случае управления сердечно-сосудистыми заболеваниями, местная терапия необходима для обеспечения передачи сигналов для рекрутирования ангиогенных клеток костного мозга. К длительному системному применению ингибиторов пролилгидроксилаз следует подходить с большой осторожностью, поскольку люди, у которых конститутивно активизируется HIF, подвержены большему риску развития сердечно-сосудистых заболеваний и увеличению смертности. Предполагается, что активация HIF и HIF-зависимых генов может выступать прокальцифицирующим фактором при минеральном дисбалансе и вызывать кальцификацию сосудов. Данные события приводят к развитию сердечно-сосудистых осложнений [59]. С другой стороны, глубокое ингибирование активности HIF и сосудистых реакций на ишемию, которые связаны со старением, позволяют предположить, что системная заместительная терапия может рассматриваться в качестве профилактической меры для пациентов, у которых могут быть документированы нарушенные реакции HIF на гипоксию. Потеря функции VHL в *C. elegans*, увеличивает продолжительность жизни HIF-1-зависимым образом, что может указывать на геропротекторное действие HIF-1.

Исследование сердечного ритма с нормальным гематокритом было первым крупномасштабным рандомизированным клиническим исследованием по оценке эффекта агентов стимулирующих эритропоэз у пациентов, находящихся на диализе. Определяя смерть и нефатальный инфаркт миокарда как первичную конечную точку, было проведено сравнение между группой с высоким гематокритом (42%) и группой с низким (30%). Данное исследование не было завершено из-за тенденции к неожиданному увеличению числа смертей и чрезмерному количеству добавок железа [13]. Это исследование вызывает опасения, что нормализация гематокрита с помощью агентов, стимулирующих эритропоэз не всегда может быть необходимой для лучших результатов, и, таким образом, установка целевого уровня гематокрита строго на уровне нормы в целом не

рекомендуется. В исследованиях CREATE, CHOIR и TREAT обсуждение нормализации анемии с помощью агентов, стимулирующих эритропоэз было позже распространено на пациентов на стадии до диализа. Исследование CREATE показало, что терапия агентами, стимулирующими эритропоэз, направленная на достижение нормального уровня гемоглобина, не оказывает положительного влияния на профилактику сердечно-сосудистых заболеваний [53]. Во-вторых, исследование CHOIR показало, что возрастает уровень смертности, застойной сердечной недостаточности, нефатального инфаркта миокарда и церебральной апоплексии [38]. В-третьих, исследование TREAT показало, что частота церебральной апоплексии значительно выросла в группе с высоким уровнем гемоглобина [62]. После этих испытаний исследование RED-HF, направленное на достижение целевого уровня гемоглобина выше 130 г/л у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, привело к увеличению частоты церебрального тромбоза [57]. Результаты этих клинических исследований показали, что целевой уровень гемоглобина выше 130 г/л или близкий к норме может иметь выраженный сердечно-сосудистый риск, который может привести к плохому прогнозу пациентов с ХБП. Примечательно, что апостериорный анализ исследований CREATE, CHOIR и TREAT показал, что истинной причиной неожиданных нежелательных явлений является не лечение агентами, стимулирующими эритропоэз, нацеленное на высокий уровень гемоглобина как таковое, а гипореактивность ESA, при которой либо высокая доза агентов, стимулирующих эритропоэз (в результате ослабленной реакции на ЭСС) или добавление больших доз железа [47]. Основной аномалией, объясняющей гипореактивность ЭСС, является хроническое воспаление и сопутствующая ему дисрегуляция железа у пациентов с ХБП.

Основываясь на вышеупомянутых исследованиях, руководство KDIGO довольно осторожно относится к использованию агентов, стимулирующих эритропоэз. В руководстве рекомендуется, чтобы терапия препаратами железа была в первую очередь, а агенты, стимулирующие эритропоэз не использовались, даже если гемоглобин пациента >100 г/л. Более того, он рекомендует, чтобы целевой уровень гемоглобина был менее 115 г/л [45]. Однако, в отличие от рекомендаций KDIGO, в рекомендациях JSDT особое внимание уделялось установке индивидуального целевого значения гемоглобина для конкретных стадий, особенно для различия пациентов, находящихся на диализе, от пациентов, находящихся на стадиях до диализа. Исходя из этого, агенты, стимулирующие эритропоэз, следует начинать, когда повторно измеряемое значение гемоглобина составляет менее 110 г/л, если пациенты находятся на додиа-

лизной стадии или на перитонеальном диализе, и ниже 100 г/л, если пациенты на гемодиализе. Кроме того, целевое значение гемоглобина должно быть установлено на уровне 100–120 г/л, если пациенты находились на гемодиализе, и 110–130 г/л, если они находились на стадии перед диализом или на перитонеальном диализе [80].

Как упоминалось выше, лечение анемии у пациентов с ХБП высокими дозами ЭСС может быть связано с повышенной смертностью у этих пациентов. Что касается концентрации эритропоэтина, его уровни после введения агентов, стимулирующих эритропоэз, очевидно, увеличиваются по сравнению с уровнями со стабилизаторами HIF-1 α . Стабилизаторы HIF-1 α могут контролировать почечную анемию, сохраняя при этом эритропоэтины в почти нормальном физиологическом диапазоне. Это может быть преимуществом у пациентов с ХБП с анемией, которым для лечения потребуются высокие дозы агентов, стимулирующих эритропоэз [66].

Анемия является распространенным осложнением хронической болезни почек (ХБП). Из-за ограничений у препаратов, стимулирующих эритропоэз, применяющихся в соответствии с современными стандартами лечения, существует необходимость в разработке новых методов лечения. Ингибиторы пролилгидроксилазы, индуцируемой гипоксией, могут быть новым перспективным вариантом лечения. В настоящее время проводятся клинические испытания 5 ингибиторов пролилгидроксилаз для лечения анемии, основные результаты которых описаны ниже.

РОКСАДУСТАТ (FG-4592/ASP1517)

Роксадустат (рис. 9) (2-(4-гидрокси-1-метил-7-феноксизохинолин-3-карбоксамидо) уксусная кислота) является ингибитором HIF-PH второго поколения от **FibroGen**, **Astellas** и **AstraZeneca**, который в ряде стран одобрен для лечения анемии у пациентов с хронической почечной недостаточностью (ХПН): Китай (с 2018), Японии (с 2019) и Европейском союзе (с 2021). В США (в 2021) FDA не одобрил Роксадустат для использования у пациентов, находящихся и не находящихся на диализе, рекомендовав провести дополнительные клинические исследования сердечно-сосудистой безопасности препарата.

Роксадустат является пероральным ингибитором PHD-2 ($t_{1/2}$ составляет 12–13 ч для здоровых людей) стабилизирует HIF-1 α , увеличивает биодоступность железа (уменьшая потребность в парентеральном введении препаратов железа) и уровень эндогенного Эритропоэтина (Эритропоэтин) в пределах физиологического диапазона, что стимулирует эритропоэз.

На ClinicalTrials.gov отмечено 35 завершенных КИ Роксадустата (FG-4592), связанные с оценкой фармакокинетики, безопасности и эффективности препарата у здоровых людей, при анемии в условиях хронической болезни почек (различной стадии), при вызванной химиотерапией анемии. Продолжающиеся КИ (II и III фазы) (более 10) преимущественно нацелены на оценку эффективности при сопутствующей патологии сердца и у детей.

По результатам проведенных исследований у пациентов с ХПН с диализом, введение Роксадустата в течение 7 недель приводило к увеличению среднего уровня Hb на ≥ 20 г/л. В другом исследовании в течение первых 16 нед. лечения уровень Hb увеличивались в среднем на 18.3 ± 0.9 г/л ($P < 0.001$). В настоящее время проводится ряд исследований фазы 3 у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности и ХБП с НБ, продолжительностью от 24 нед. до 3 лет [71]. В сравнительных исследованиях эффективности пероральный Роксадустат не уступал парентеральному α -Эритропоэтинэтину в качестве терапии анемии у пациентов, проходящих диализ [19]. При этом Роксадустат дозозависимо и значительно снижал уровни общего холестерина у пациентов с НБЗ ХБП, что было подтверждено в исследовании, которое проводилось на пациентах, находящихся на диализе. В исследованиях Zhang с соавторами также показано положительное влияние Роксадустата в отношении снижения триглицеридов и протективное действие в отношении атеросклероза, что является важным, учитывая распространенность нарушений липидного обмена [89].

Появляется все больше свидетельств того, что почечная гипоксия встречается при остром почечном повреждении (ОПП) различной этиологии и играет важную роль как при ишемической, так и при токсической острой почечной недостаточности. Во многих исследованиях сообщалось, что предварительная активация HIF защищает от ишемии-реперфузии почки и повреждения, вызванного цисплатином. Использование малых молекул для стабилизации HIF-1 α является новой стратегией лечения ОПП. Например, было показано, что предварительное введение роксадустата ослабляет ишемическое ОПП.

Введении нефротоксина цисплатина приводит к значительному увеличению содержания провоспалительных факторов в плазме (TNF- α , IL-6, IL-1 β и моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1)) и ткани почек (TNF- α , IL-6, IL-1 β , MCP-1, сосудистый белок клеточной адгезии 1 (VCAM-1) и циклооксигеназы-2), является валидной моделью ОПП. Применение Роксадустата предупреждает развитие воспаления в почках и повышение концентрации указанных

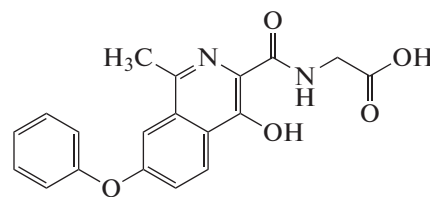


Рис. 9. Химическая структура Роксадустата.

медиаторов, после введения цисплатина. Роксадустат и последующее за его введением повышение концентрации белка HIF-1 α вызывает увеличение экспрессии генов-мишеней HO-1 и эритропоэтина, что имеет выраженный терапевтический потенциал при ОПП и ХБП [82].

Эксперименты *in vivo* показали, что Роксадустат эффективно ускоряет заживление ран, сокращает время заживления и вызывает гиперплазию эпидермиса, имитируя положительное влияние острой гипоксии на активацию эпителиальных стволовых клеток и запуская ускоренную реэпителизацию во время заживления ран. Это исследование продемонстрировало, что как гипоксия, так и Роксадустат улучшают пролиферацию и подвижность эпителиальных стволовых клеток путем стабилизации HIF-1 α , что может применяться для ускорения заживления ран [72]. В исследованиях введение Роксадустата ускоряло заживление кожных ран и способствовало ангиогенезу в раневых участках крыс со стрептозотоциновой моделью сахарного диабета [92]. Это особенно важно, учитывая фактическое отсутствие лекарственных препаратов, которые были бы эффективны при терапии диабетической стопы – ведущей причины ампутаций при СД.

Применение ингибиторов пролилгидроксилазы, индуцируемых гипоксией (HIF), в качестве терапевтического средства лечения пациентов, страдающих анемией, было продемонстрировано для различных клинических условий. Однако, помимо этого предполагаемого применения, стабилизаторы HIF могут стать предметом неправильного использования в любительских и элитных видах спорта из-за их эритропоэтических свойств, что недавно было подтверждено несколькими случаями неблагоприятных аналитических результатов в тестах на допинг-контроль. [34].

Применение Роксадустата повышает устойчивость к ишемически/реперфузионному повреждению миокарда ишемии у мышей [25].

Роксадустат был эффективен при почечной анемии у пациентов с НБЗ и ХБП [90], улучшая обмен гемоглобина и железа, не увеличивая частоту возникновения нежелательных и тяжелых нежелательных явлений [42].

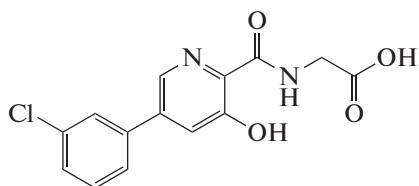


Рис. 10. Химическая структура Вададустата.

Роксадустат не только корректирует депрессивное поведение, но также улучшает вызванное хроническим непредсказуемым легким стрессом ухудшение памяти, что может объясняться значимой ролью HIF-1 α в нейрогенезе, в том числе гиппокампа и синаптической пластичности. На молекулярном уровне было обнаружено, что введение Роксадустата активирует пути передачи сигналов HIF-1 α и цАМФ-чувствительного элемента, связывающего белок/нейротрофический фактор мозга, происходящие *in vivo*, а также способствует экспрессии белков постсинаптической плотности (PSD), PSD95 и Homer1. Исследование первичных нейронов гиппокампа показало, что Роксадустат способствует росту дендритов. Роксадустат является многообещающей терапевтической стратегией для лечения болезни Паркинсона через улучшение митохондриальной функции в условиях окислительного стресса. Результаты, полученные Ли Г. с соавт. [51], не только дают экспериментальное обоснование для клинического применения Роксадустата при депрессии, но также подтверждают аргумент, что сигнальный путь HIF-1 α является многообещающей мишенью для лечения заболеваний ЦНС. Это утверждение также подтверждается исследованиями Ли Х. [52], в которых Роксадустат защищает от индуцированной МРТР гибели ТН-позитивных нейронов черной субстанции и ослабляет нарушения поведения мышей.

ВАДАДУСТАТ (АКВ-6548)

Вададустат (Akebia, рис. 10) – ингибитор HIF-PH, в настоящее время находится в фазе 3 стадии клинических исследований в качестве препарата для лечения вторичной анемии при ХБП ($t_{1/2}$ составляет 4.5 ч при пероральном приеме у здоровых участников).

На ClinicalTrials.gov отмечено 25 завершенных КИ Вададустата (АКВ-6548), связанные с оценкой фармакокинетики, лекарственного взаимодействия, кардиобезопасности, эффективности при нарушенной функции печени, при анемии в условиях хронической болезни почек (различной стадии). Продолжающиеся 4 КИ (II и III фазы) нацелены на оценку эффективности при анемии у детей и взрослых и для профилактики и лечения

острого респираторного дистресс-синдрома у госпитализированных пациентов с COVID-19.

Среди побочных эффектов Вададустата наиболее часто отмечали следующие: диарея (4.3%) и тошнота (4.3%). Прекратили исследование из-за побочных эффектов десять (7.2%) пациентов, получавших Вададустат и 3 (4.2%) получавших плацебо. Артериальная гипертензия чаще отмечалась как побочное действие в группе Вададустат, чем в группе плацебо, хотя у всех пациентов, получавших Вададустат, у которых сообщалось о гипертонии, в анамнезе было повышенное артериальное давление, этот показатель на фоне терапии не изменялся. Терапия Вададустатом не влияла на уровень холестерина в крови.

В 2020 г. завершилась 3 фаза КИ для Вададустата с участием 2600 пациентов на диализе с анемией, связанной с хроническим заболеванием почек – INNO2VATE, в котором вададустат не уступал дарбэпоэтину альфа в отношении сердечно-сосудистой безопасности, а также коррекции и поддержания концентраций гемоглобина [27].

В сентябре 2020-го года Akebia Therapeutics представила основные данные клинических испытаний фазы III PRO2TECT вададустата как средства лечения анемии, связанной с хроническим заболеванием почек (ХБП), у взрослых, не находящихся на диализе. PRO2TECT – это вторая глобальная программа компании по оценке сердечно-сосудистых заболеваний Фазы III.

В двух испытаниях PRO2TECT оценивалась эффективность и безопасность препарата по сравнению с дарбэпоэтином альфа. Оба исследования соответствовали первичной и ключевой вторичной конечной точке эффективности с меньшей эффективностью по сравнению с дарбэпоэтином альфа. Неменьшую эффективность определяли, как среднее изменение гемоглобина (Hb) между исходным уровнем и периодом первичной оценки с 24 по 36 нед. и периодом вторичной оценки с 40 по 52 нед. Однако препарат не соответствовал первичной конечной точке безопасности программы PRO2TECT, которая не уступает по времени первому возникновению серьезных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (MACE) [21].

МОЛИДУСТАТ (ВАУ 85-3934)

Фармацевтическая компания Bayer Healthcare проводит оценку ингибитора HIF-PH, молидустата (ВАУ 85-3934, рис. 11). В доклинических исследованиях было показано, что молидустат эффективен при почечной и воспалительной анемии и, в отличие от терапии Эритропоэтином он снижает артериальное давление на модели ХБП. Уровни эндогенного Эритропоэтина, индуцированные во время лечения, были близки к нор-

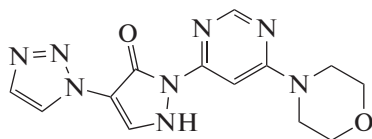


Рис. 11. Химическая структура Молидустата.

мальному физиологическому диапазону. На здоровых мужчинах введение однократных доз (37.5 и 50 мг) дозозависимо увеличивало уровень Эритропоэтина и количество ретикулоцитов.

На ClinicalTrials.gov отмечено 15 завершенных и 1 продолжающееся КИ (I, II и III фазы) Молидустата, связанные с оценкой безопасности, фармакокинетики и эффективности при анемии в условиях хронической болезни почек (различной стадии) у пациентов на диализе и без диализа.

В рандомизированном, двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании фазы 2b длительностью 16-недель (121 участник) Молидустат применялся у пациентов с анемией, не страдающих ЭКА с НБЗ в фиксированной дозе один и два раза в день. До конца исследования дошли 40% пациентов, получавших Молидустат, и 90% пациентов, получавших плацебо. Прекращение лечения молидустатом происходило главным образом из-за уровней Hb > 130 г/л или повышения >10 г/л через 2 нед. (44 из 61; ни один из них из-за Hb < 80 г/л); более высокие дозы молидустата привели к более высокой частоте прекращения приема из-за достижения критериев Hb.

Влияние молидустата на метаболизм железа оценивалось в трех 16-недельных рандомизированных контролируемых исследованиях фазы 2, оценивающих безопасность и эффективность молидустата при лечении анемии, связанной с ХБП, в различных популяциях: пациентам, не получавшим лечение, и пациентам, ранее получавшим агенты стимулирующие эритропоэз, не находящимся на диализе, и ранее леченные Эритропоэтином пациенты на гемодиализе [33]. У пациентов, не получавших ранее лечение и/или диализ, коэффициент насыщения трансферрина, концентрации гепсидина, ферритина и железа снижались на фоне применения молидустата, тогда как общая железосвязывающая способность сыворотки увеличивалась. Аналогичные результаты наблюдались у ранее леченных Эритропоэтином пациентов, не находящихся на диализе, хотя изменения в этих параметрах были более значительными у пациентов, не получавших лечение, чем у ранее леченных Эритропоэтин пациентов. У ранее получавших стимуляторы эритропоэза пациентов, получавших гемодиализ, концентрация гепсидина и общая железосвязывающая способность сыворотки оставались стабильными с молидустатом, тогда как коэффициент насыще-

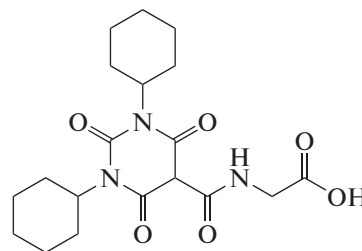


Рис. 12. Химическая структура Дапродустата.

ния трансферрина, концентрации ферритина и железа увеличивались. В целом, аналогичные тенденции наблюдались во вторичных анализах подгрупп пациентов, не получавших добавки железа [11].

MIYABI Non-Dializ-Correction (MolIdustat once daily improves renal Anaemia By Inducing erythropoietin; ND-C) и MIYABI Non-Dialysis-Maintenance (ND-M) – рандомизированные, открытые, многоцентровые исследования в параллельных группах, целью которых является оценка эффективности лечения молидустатом по сравнению с дарбэпоэтином альфа у пациентов с анемией и ХБП без диализа. Вторичными задачами являются оценка безопасности, фармакокинетики и фармакодинамики лечения молидустатом. Средние значения (стандартное отклонение) исходных уровней гемоглобина составляли 98.4 (6.4) г/л для Молидустата и 100 (6.1) г/л для Дарбэпоэтина. Среднее (95% доверительный интервал [ДИ]) средних уровней гемоглобина в течение периода оценки для молидустата (112.8 [110.7; 115] г/л) и дарбэпоэтина (117 [115; 119] г/л) находилось в пределах целевого диапазона. Таким образом, Молидустат не уступал Дарбэпоэтину в изменении среднего уровня гемоглобина в течение периода оценки. Доля пациентов, сообщивших по крайней мере об одном нежелательном явлении, возникшем во время лечения (TEAE), составила 93.9% для Молидустата и 93.7% для Дарбэпоэтина [81].

ДАПРОДУСТАТ (GSK-1278863)

Фармацевтическая компания GlaxoSmithKline разрабатывает ингибитор HIF-PH, дапродустат (GSK-1278863, рис. 12).

На ClinicalTrials.gov отмечено 35 завершенных и 1 продолжающееся КИ (I, II и III фазы) Дапродустата, связанные с оценкой фармакокинетики, лекарственного взаимодействия, кардиобезопасности, эффективности при анемии в условиях хронической болезни почек (различной стадии). Также завершены КИ противоишемического действия Дапродустата в отношении почек и сердца в процессе хирургического лечения ане-

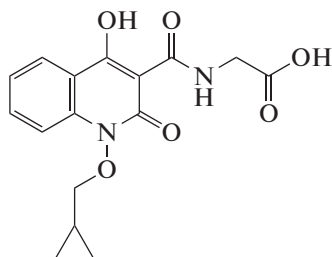


Рис. 13. Химическая структура Десидустата.

вризмы грудной аорты, а также его влияние на функциональное восстановление мышц после интенсивных физических упражнений.

В фазе I дапродустат хорошо переносился и дозозависимо увеличивал уровни Эритропоэтин ($t_{1/2}$ составляет 4 ч при пероральном приеме у здоровых участников). В фазе 2a исследования пациенты с NDD-CKD (Диализ-независимые пациенты с ХБП (non-dialysis-dependent)) и терминальной стадии почечной недостаточности в течение 4 недель принимали ежедневно дапродустат (в дозе 0,5, 2 и 5 мг). Среднее повышение уровня Hb на 10 г/л было достигнуто в группе, получавшей 5 мг в популяции NDD-CKD не получавших Эритропоэтин. В гемодиализной популяции уровни Hb оставались стабильными после перехода от Эритропоэтина в группе лечения 5 мг, но не при более низких (0,5 и 2 мг) дозах дапродустата. Исследование, в котором изучались скорость повышения уровня гемоглобина, безопасность и переносимость, показало, что суточные дозы 10 и 25 мг обеспечивают эффективный эритропоэз при умеренной суточной выработке эндогенного Эритропоэтин. Применение этих доз у некоторых пациентов приводило к повышению Hb до высокого уровня (>130 г/л), что привело к раннему прекращению исследования. Подобное высокое повышение уровня Hb также имело место после ежедневного применения дапродустата в дозах 50 и 100 мг для групп с ХЗП 3–5 стадий и наряду с другими нежелательными явлениями, не связанными с переносимостью уровня Hb, приводило к раннему прекращению исследования.

Как и другие агенты в классе, наиболее распространенным побочными эффектами, наблюдаемым в исследованиях фазы 2, была тошнота [33].

Дапродустат, как и все представители этого класса, позиционируется в качестве эффективной альтернативы для лечения анемии у пациентов с ХБП. Дапродустат вызывал дозозависимые эффекты связанные и не связанные с эритропоэзом. Не было клинически значимого увеличения

VEGF по сравнению с группами плацебо, что означает, что ингибирование HIF-PH не влияет на регуляцию VEGF посредством эритропоэтина. Значительное число пациентов вышло из исследования из-за быстрого увеличения уровней Hb на ≥ 10 г/л или уровня Hb > 135 г/л в течение 2-недельного периода. Эти устойчивые фармакодинамические ответы в течение таких коротких периодов времени могут указывать на потенциальную возможность развития сердечно-сосудистых или канцерогенных побочных эффектов от применения дапродустата при обследовании в течение более длительного периода времени. Общие побочные эффекты, такие как тошнота и диспепсия, хорошо переносились и были в основном доброкачественными. Основываясь на предварительном клиническом исследовании, дапродустат неэффективен для лечения заболевания периферических артерий. Эти данные в основном ограничены в зависимости от продолжительности исследований и небольшой численности пациентов. Наконец, существуют другие ингибиторы HIF-PH, которые в настоящее время находятся в фазе III разработки. Хотя эти агенты имеют одинаковый механизм действия, они различаются в зависимости от дозировки и администрации. Если в III фазе испытаний дапродустата будут обнаружены положительные результаты, он станет одним из четырех ингибиторов HIF-PH, поданных для одобрения FDA для лечения анемии у пациентов с ХБП в ближайшие годы [12].

ДЕСИДУСТАТ (ZYAN1)

Десидустат (ZYAN1, рис. 13) Zydus Cadila является пероральным HIF-PHI, который стимулирует эритропоэз.

На ClinicalTrials.gov отмечено 3 завершенных и 1 продолжающееся КИ (I, II и III фазы) Десидустата, связанные с оценкой фармакокинетики, эффективности при анемии в условиях хронической болезни почек (различной стадии). Также в КИ оценивается эффективность Десидустата для лечения анемии у пациентов, получающих химиотерапию, а также для оценки его эффективности и безопасности для лечения пациентов с COVID-19 легкой, средней и тяжелой степени тяжести, где Десидустат вводили в течение 14 дней вместе с рекомендуемой стандартной терапией.

У пациентов, получавших Десидустат (6 нед.; 100, 150 и 200 мг соответственно) Hb в среднем увеличился на 15,7; 22,2 и 29,2 г/л. Частота ответа (увеличение ≥ 10 г/л) составляла 66% для 100 мг, 75% для 150 мг и 83% в группах лечения 200 мг в популяции MITT. Фармакокинетические характеристики и безопасность Десидустата также оце-

нивали в исследованиях, проведенных Parma, 2019 с соавт. [Регистрационный номер клинического испытания CTRI/2017/05/008534 (зарегистрирован 11 мая 2017 г.) [60].

Хронические воспалительные заболевания часто связаны с анемией. В таких условиях анемию обычно лечат с помощью агентов, стимулирующих эритропоэз, которые связаны с потенциально опасными побочными эффектами и плохими результатами. Считается, что субоптимальный эритропоэз при хроническом воспалении вызван повышенным уровнем гепсидина, который вызывает блокаду железа в тканевых запасах. В работе с использованием моделей воспаления у грызунов Десидустат был оценен как эффективное лечение анемии воспаления. У мышей BALB/c однократное введение Десидустата оказывало противовоспалительное действие, вызванное липополисахаридом (ЛПС) или скипидаром, повышало уровень Эритропоэтина в сыворотке, количество железа и ретикулоцитов и снижало уровни гепсидина в сыворотке. При анемии, вызванной скипидарным маслом, у мышей BALB/c повторная терапия Десидустатом дозозависимо увеличивала содержание гемоглобина, эритроцитов и гематокрита. У самок крыс Льюиса лечение Десидустатом заметно снижало вызванную PGPS анемию и увеличивало количество гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов (WBC), гематокрит, сывороточное железо и селезенку. Эти эффекты Десидустата были связаны со снижением экспрессии гепсидина (HAMP), а также со снижением сывороточного гепсидина и увеличением экспрессии эритропоэтина в печени и почках. Лечение Десидустатом вызвало значительное увеличение экспрессии дуоденального цитохрома В (CytB), ферропортина (FPN1) и транспортера 1 двухвалентного металла (DMT1) в двенадцатиперстной кишке и FPN1 и белка-1 хемоаттрактанта моноцитов (MCP-1) в печени, что свидетельствует об общем влиянии на метаболизм железа. Таким образом, фармакологическое ингибирование ферментов пролилгидроксилазы может быть полезным при лечении анемии воспаления [41]. Вопрос об универсальности этого эффекта для всех представителей HIF-PH1 остается открытым, но для Десидустата эффективность (при анемии и при COVID-19) в некоторых КИ связывают со снижением уровня воспалительных цитокинов (таких как IL-6) и окислительного стресса.

ЭНАРОДУСТАТ (JTZ-951)

Энародустат (JTZ-951, рис. 14), разрабатываемый Japan Tobacco и Torii Pharmaceutical, перво-

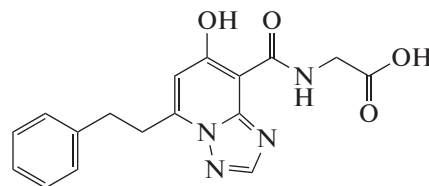


Рис. 14. Химическая структура Энародустата.

ральный ингибитор HIF-PH1 был одобрен в сентябре 2020 г. в Японии для лечения анемии, связанной с ХБП.

Клинические исследования фазы 3 подтвердили эффективность и безопасность Энародустата у пациентов с анемией и ХБП, не находящихся на диализе, на перитонеальном диализе и на гемодиализе [31]. Во время исследования уровень Hb оставался в пределах целевого диапазона, Энародустат снижал уровни гепсидина и ферритина, повышал общую железосвязывающую способность и в целом хорошо переносился.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Соотношение кислорода и углекислого газа в организме подвержено строгому контролю со стороны различных систем. Изменение концентраций любого из этих газов быстро улавливается, что влечет за собой ответ организма и адаптацию к меняющимся условиям как внешней, так и внутренней среды. Сигнальная роль кислорода и углекислого газа, несомненно, играет ключевую роль в развитии адаптационного ответа, однако длительное нарушение гомеостаза этих газов служит звеном патогенеза многих заболеваний. Состояние гипоксии эволюционно важно для развития организма, но также сопровождается большим количеством патологических процессов, поэтому необходимо понимать механизмы ее формирования с целью поиска способов фармакологической коррекции. Перспективным направлением является стабилизация α -субъединицы фактора, индуцируемого гипоксией (HIF-протекторы). Разработка лекарственных препаратов путем подавления метаболизма эндогенных биологически активных веществ, не одно десятилетие является распространенной стратегией многих фармацевтических компаний. Многие блокбастеры были созданы именно так (ингибиторы ДПП-4, MAO, и АПФ). В качестве протекторов HIF предложены вещества ингибирующие пролилгидроксилазу, препятствующие его деградации, что делает возможным осуществление его эффектов, а именно запуск экспрессии нижестоящих факторов ответа на гипоксию. Препараты, защищающие HIF, по-

мнению некоторых экспертов имеют высокие шансы пополнить список лекарств-блокбастеров. Однако стоит понимать, что ввиду своего плейотропного действия, стабилизация и, как следствие, избыточное накопление HIF, может быть нежелательными при ряде заболеваний, также необходимы дальнейшие исследования плейотропных эффектов данных препаратов, которые могут не зависеть от HIF.

БЛАГОДАРНОСТИ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. и др. Сахарный диабет 2 типа у взрослых // Сахарный диабет. 2020. Т. 23. № 2S. С. 4. <https://doi.org/10.14341/>
2. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. СПб.: Н-Л, 2004. 368 с.
3. Зинчук В.В. Кислородтранспортная функция крови и газотрансмиттер сероводород // Успехи физиологических наук. 2021. Т. 52. № 3. С. 41–55. <https://doi.org/10.31857/S0301179821030085>
4. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Антигипоксанты: возможные механизмы действия и клиническое применение // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2011. № 4. С. 43–57.
5. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Возможности фармакологического прекондиционирования // Вестник РАМН. 2016. № 1. С. 16–24. <https://doi.org/10.15690/vramn626>
6. Оковитый С.В., Шуленин С.Н., Смирнов А.В. Клиническая фармакология антигипоксантов и антиоксидантов. СПб.: ФАРМиндекс, 2005. 72 с.
7. Рыбникова Е.А., Самойлов М.О. Современные представления о церебральных механизмах гипоксического пре и посткондиционирования // Успехи физиологических наук. 2016. Т. 47. № 4. С. 3–17.
8. Сысоев Ю.И., Крошклина К.А., Пьянкова В.А., Карев В.Е., Оковитый С.В. Изменение амплитудных и спектральных параметров электрокортикограмм крыс, перенесших черепно-мозговую травму // Биомедицина. 2019. Т. 15. № 4. С. 107. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-4-107-120>
9. Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Калинин Р.Е. и др. Эффективность и безопасность применения препарата “Неоваскулген” в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (IIb–III фаза клинических испытаний) // Гены и клетки. 2011. № 3. С. 76–83.
10. Шустов Е.Б., Каркищенко Н.Н., Дуля М.С. и др. Экспрессия гипоксия-индуцибельного фактора HIF1 α как критерий развития гипоксии тканей // Биомедицина. 2015. Т. 1. № 4. С. 4.
11. Akizawa T., Macdougall I.C., Berns J.S. et al. Iron regulation by molidustat, a daily oral hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor, in patients with chronic kidney disease // Nephron. 2019. V. 143. № 4. P. 243. <https://doi.org/10.1159/000502012>
12. Becker K.A., Jones J.J. An emerging treatment alternative for anemia in chronic kidney disease patients: a review of daprodustat // Adv. Ther. 2018. V. 35. № 1. P. 5. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0655-z>
13. Besarab A., Chernyavskaya E., Motylev I. et al. Roxadustat (FG-4592): correction of anemia in incident dialysis patients // J. Am. Soc. Nephrol. 2016. V. 27. № 4. P. 1225. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015030241>
14. Bessho R., Takiyama Y., Takiyama T. et al. Hypoxia-inducible factor-1 α is the therapeutic target of the SGLT2 inhibitor for diabetic nephropathy // Scientific reports. 2019. V. 9. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51343-1>
15. Bosch-Marce M., Okuyama H., Wesley J.B. et al. Effects of aging and hypoxia-inducible factor-1 activity on angiogenic cell mobilization and recovery of perfusion after limb ischemia // Circ. Res. 2007. V. 101. № 12. P. 1310. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.153346>
16. Botusan I.R., Sunkari V.G., Savu O. et al. Stabilization of HIF-1 α is critical to improve wound healing in diabetic mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. № 49. P. 19426. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805230105>
17. Cai T., Ke Q., Fang Y. et al. Sodium–glucose cotransporter 2 inhibition suppresses HIF-1 α -mediated metabolic switch from lipid oxidation to glycolysis in kidney tubule cells of diabetic mice // Cell Death Dis. 2020. V. 11. № 5. P. 390. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2544-7>
18. Cerychova R., Pavlinkova G. HIF-1, metabolism, and diabetes in the embryonic and adult heart // Front. Endocrinol. 2018. № 9. P. 460. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00460>
19. Chen N., Hao C., Peng X. et al. Roxadustat for anemia in patients with kidney disease not receiving dialysis // N. Engl. J. Med. 2019. V. 381. № 11. P. 1001. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1813599>
20. Chen Z., Lai T.C., Jan Y.H. et al. Hypoxia-responsive miRNAs target argonaute 1 to promote angiogenesis // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. № 3. P. 1057. <https://doi.org/10.1172/JCI65344>
21. Chertow G.M., Pergola P.E., Farag Y.M.K. et al. Vadadustat in patients with anemia and non-dialysis-dependent CKD // N. Engl. J. Med. 2021. V. 384. № 17. P. 1589. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2035938>
22. Clambey E.T., McNamee E.N., Westrich J.A. et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha-dependent induction of FoxP3 drives regulatory T-cell abundance and function during inflammatory hypoxia of the mucosa // Proc.

- Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. № 41. P. E2784.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1202366109>
23. *Creager M.A., Olin J.W., Belch J.J. et al.* Effect of hypoxia-inducible factor-1 α gene therapy on walking performance in patients with intermittent claudication // *Circulation*. 2011. V. 124. № 16. P. 1765.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.009407>
24. *Cummins E.P., Strowitzki M.J., Taylor C.T.* Mechanisms and consequences of oxygen and carbon dioxide sensing in mammals // *Physiol. Rev.* 2020. V. 100. № 1. P. 463.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2019>
25. *Deguchi H., Ikeda M., Ide T. et al.* Roxadustat markedly reduces myocardial ischemia reperfusion injury in mice // *Circ. J.* 2020. V. 84. № 6. P. 1028.
<https://doi.org/10.1253/circj.CJ-19-1039>
26. *Dunham-Snary K.J., Hong Z.G., Xiong P.Y. et al.* A mitochondrial redox oxygen sensor in the pulmonary vasculature and ductus arteriosus // *Pflügers Arch.* 2016. V. 468. № 1. P. 43.
<https://doi.org/10.1007/s00424-015-1736-y>
27. *Eckardt K.U., Agarwal R., Aswad A. et al.* Safety and efficacy of vadadustat for anemia in patients undergoing dialysis // *N. Engl. J. Med.* 2021. V. 384. № 17. P. 1601.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2025956>
28. *Erler J.T., Weaver V.M.* Three-dimensional context regulation of metastasis // *Clin. Exp. Metastasis*. 2009. V. 26. № 1. P. 35.
<https://doi.org/10.1007/s10585-008-9209-8>
29. *Ferro J.M., Bousser M.G., Canhão P. et al.* European Stroke Organization guideline for the diagnosis and treatment of cerebral venous thrombosis – Endorsed by the European Academy of Neurology // *Eur. J. Neurol.* 2017. V. 2. № 3. P. 195.
<https://doi.org/10.1177/2396987317719364>
30. *Fitzpatrick S.F.* Immunometabolism and sepsis: a role for HIF? // *Front. Mol. Biosci.* 2019. V. 6. P. 85.
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00085>
31. *Fukui K., Tanaka T., Nangaku M.* Enarodustat to treat anemia in chronic kidney disease // *Drugs Today (Barc)*. 2021. V. 57. № 8. P. 491–497.
<https://doi.org/10.1358/dot.2021.57.8.3304877>
32. *Grampp S., Schmid V., Salama R. et al.* Multiple renal cancer susceptibility polymorphisms modulate the HIF pathway // *PLoS Genet.* 2017. V. 13. № 7. e1006872.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006872>
33. *Gupta N., Wish J.B.* Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors: a potential new treatment for anemia in patients with CKD // *Am. J. Kidney Dis.* 2017. V. 69. № 6. P. 815.
<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2016.12.011>
34. *Hansson A., Thevis M., Cox H. et al.* Investigation of the metabolites of the HIF stabilizer FG-4592 (roxadustat) in five different in vitro models and in a human doping control sample using high resolution mass spectrometry // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2017. V. 134. P. 228.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.11.041>
35. *Higgins D.F., Kimura K., Bernhardt W.M. et al.* Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition // *J. Clin. Invest.* 2007. V. 117. № 12. P. 3810.
<https://doi.org/10.1172/JCI30487>
36. *Huang D., Li T., Li X. et al.* HIF-1-mediated suppression of acyl-CoA dehydrogenases and fatty acid oxidation is critical for cancer progression // *Cell reports*. 2014. V. 8. № 6. P. 1930.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.08.028>
37. *Iizuka K., Bruick R.K., Liang G. et al.* Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 19. P. 7281.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0401516101>
38. *Inrig J.K., Barnhart H.X., Reddan D. et al.* Effect of hemoglobin target on progression of kidney disease: a secondary analysis of the CHOIR (Correction of Hemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency) trial // *Am. J. Kidney Dis.* 2012. V. 60. № 3. P. 390.
<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2012.03.009>
39. *Isoe T., Makino Y., Mizumoto K. et al.* High glucose activates HIF-1-mediated signal transduction in glomerular mesangial cells through a carbohydrate response element binding protein // *Kidney Int.* 2010. V. 78. № 1. P. 48.
<https://doi.org/10.1038/ki.2010.99>
40. *Ivanova I.G., Park C.V., Kenneth N.S.* Translating the hypoxic response — the role of HIF protein translation in the cellular response to low oxygen // *Cells*. 2019. V. 8. № 2. P. 114.
<https://doi.org/10.3390/cells8020114>
41. *Jain M., Joharapurkar A., Patel V. et al.* Pharmacological inhibition of prolyl hydroxylase protects against inflammation-induced anemia via efficient erythropoiesis and hepcidin downregulation // *Eur. J. Pharmacol.* 2019. V. 843. P. 113.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.11.023>
42. *Jia L., Dong X., Yang J., Jia R., Zhang H.* Effectiveness of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor roxadustat on renal anemia in non-dialysis-dependent chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis // *Ann. Transl. Med.* 2019. V. 7. № 23. P. 720.
<https://doi.org/10.21037/atm.2019.12.18>
43. *Kaelin W.G. Jr.* The von Hippel-Lindau tumour suppressor protein: O₂ sensing and cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2008. V. 8. № 11. P. 865.
<https://doi.org/10.1038/nrc2502>
44. *Karhausen J., Furuta G.T., Tomaszewski J.E. et al.* Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis // *J. Clin. Invest.* 2004. V. 114. № 8. P. 1098.
<https://doi.org/10.1172/JCI21086>
45. *Khawaja A.* KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury // *Nephron Clin. Pract.* 2012. V. 2. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1159/000339789>

46. *Knaup K.X., Guenther R., Stoeckert J. et al.* HIF is not essential for suppression of experimental tumor growth by mTOR inhibition // *J. Cancer*. 2017. V. 8. № 10. P. 1809. <https://doi.org/10.7150/jca.16486>
47. *Kuragano T., Kitamura K., Matsumura O. et al.* ESA hyporesponsiveness is associated with adverse events in maintenance hemodialysis (MHD) patients, but not with iron storage // *PLoS One*. 2016. V. 11. № 3. e0147328. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147328>
48. *Laukka T., Mariani C.J., Ihtola T. et al.* Fumarate and Succinate Regulate Expression of Hypoxia-inducible Genes via TET Enzymes // *J. Biol Chem*. 2016. V. 291. № 8. P. 4256. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.688762>
49. *Lee Y., Kim M., Han J. et al.* MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II // *EMBO J*. 2004. V. 23. № 20. P. 4051. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600385>
50. *Lei Z., Li B.O., Yang Z. et al.* Regulation of HIF-1 α and VEGF by miR-20b tunes tumor cells to adapt to the alteration of oxygen concentration // *PLoS One*. 2009. V. 4. № 10. e7629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007629>
51. *Li G., Zhao M., Cheng X. et al.* FG-4592 improves depressive-like behaviors through HIF-1-mediated neurogenesis and synapse plasticity in rats // *Neurotherapeutics*. 2020. V. 17. № 2. P. 664. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00807-3>
52. *Li X., Zou Y., Xing J. et al.* Pretreatment with roxadustat (FG-4592) attenuates folic acid-induced kidney injury through antiferroptosis via Akt/GSK-3 β /Nrf2 pathway // *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2020. P. 6286984. <https://doi.org/10.1155/2020/6286984>
53. *Locatelli F., Eckardt K.U., Macdougall I.C. et al.* Value of N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic marker in patients with CKD: results from the CREATE study // *Curr. Med. Res. Opin*. 2010. V. 26. № 11. P. 2543. <https://doi.org/10.1185/03007995.2010.516237>
54. *López-Barneo J., Pardo R., Ortega-Sáenz P.* Cellular mechanism of oxygen sensing // *Annu. Rev. Physiol*. 2001. V. 63. № 1. P. 259. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.63.1.259>
55. *López-Barneo J., González-Rodríguez P., Gao L. et al.* Oxygen sensing by the carotid body: mechanisms and role in adaptation to hypoxia // *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2016. V. 310. № 8. P. 629. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00265.2015>
56. *Masoud G.N., Wei L.* HIF-1 α pathway: role, regulation and intervention for cancer therapy // *Acta Pharm. Sin. B*. 2015. № 5. P. 378. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.05.007>
57. *McMurray J.J., Anand I.S., Diaz R. et al.* Design of the Reduction of Events with Darbepoetin alfa in Heart Failure (RED-HF): a Phase III, anaemia correction, morbidity–mortality trial // *Eur. J. Heart Fail*. 2009. V. 11. № 8. P. 795. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfp098>
58. *Mimouna S., Gonçalves D., Barnich N. et al.* Crohn disease-associated *Escherichia coli* promote gastrointestinal inflammatory disorders by activation of HIF-dependent responses // *Gut Microbes*. 2011. V. 2. № 6. P. 335–346. <https://doi.org/10.4161/gmic.18771>
59. *Mokas S., Larivière R., Lamallice L. et al.* Hypoxia-inducible factor-1 plays a role in phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification // *Kidney International*. 2016. V. 90. № 3. P. 598. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.05.020>
60. *Parmar D., Kansagra K.* MON-318 A phase II trial to assess safety, tolerability and efficacy of PHD-2 inhibitor (desidustat-zyan1) in the treatment of anemia in pre-dialysis chronic kidney disease patients // *Kidney Int. Rep*. 2019. V. 4. № 7. S430. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2019.05.1131>
61. *Petrov D., Mansfield C., Moussy A., Hermine O.* ALS clinical trials review: 20 years of failure. Are we any closer to registering a new treatment? // *Front. Aging Neurosci*. 2017. V. 9. P. 68. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00068>
62. *Pfeffer M.A., Burdmann E.A., Chen C.Y. et al.* Baseline characteristics in the trial to reduce cardiovascular events with aranesp therapy (TREAT) // *Am. J. Kidney Dis*. 2009. V. 54. № 1. P. 59. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.04.008>
63. *Prabhakar N.R., Semenza G.L.* Adaptive and maladaptive cardiorespiratory responses to continuous and intermittent hypoxia mediated by hypoxia-inducible factors 1 and 2 // *Physiol. Rev*. 2012. V. 92. № 3. P. 967. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2011>
64. *Prabhakar N.R., Peng Y.J., Nanduri J.* Hypoxia-inducible factors and obstructive sleep apnea // *J. Clin. Invest*. 2020. V. 130. № 10. P. 5042. <https://doi.org/10.1172/JCI137560>
65. *Sarkar K., Rey S., Zhang X. et al.* Tie2-dependent knockout of HIF-1 impairs burn wound vascularization and homing of bone marrow-derived angiogenic cells // *Cardiovasc. Res*. 2012. V. 93. № 1. P. 162. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr282>
66. *Satoru K., Maruyama Y., Honda H.* A new insight into the treatment of renal anemia with HIF stabilizer // *Renal Replacement Therapy*. 2020. № 6. P. 63. <https://doi.org/10.1186/s41100-020-00311-x>
67. *Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factors: mediators of cancer progression and targets for cancer therapy // *Trends Pharmacol. Sci*. 2012. V. 33. № 4. P. 207. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.01.005>
68. *Semenza G.L.* Hypoxia-Inducible Factor 1 and Cardiovascular Disease // *Annu. Rev. Physiol*. 2014. V. 76. P. 39. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021113-170322>
69. *Semenza G.L.* Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine // *Cell*. 2012. V. 148. № 3. P. 399. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.021>
70. *Semenza G.L.* Molecular mechanisms mediating metastasis of hypoxic breast cancer cells // *Trends Mol.*

- Med. 2012. V. 18. № 9. P. 534.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.08.001>
71. *Soleymani Abyaneh H., Gupta N., Radziwon-Balicka A. et al.* STAT3 but not HIF-1 α is important in mediating Hypoxia-Induced chemoresistance in MDA-MB-231, a triple negative breast cancer cell line // *Cancers*. 2017. V. 9. № 10. P. 137.
<https://doi.org/10.3390/cancers9100137>
 72. *Tang M., Zhu C., Yan T. et al.* Safe and Effective Treatment for Anemic Patients With Chronic Kidney Disease: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis on Roxadustat // *Front. Pharmacol.* 2021. № 12. P. 658079.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2021.658079>
 73. *Urrutia A.A., Aragonés J.* HIF oxygen sensing pathways in lung biology // *Biomedicines*. 2018. V. 6. № 2. P. 68.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines6020068>
 74. *Wang Y., Zhang S., Li F. et al.* Therapeutic target database 2020: enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics // *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. № D1. P. D1031.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkz981>
 75. *Watts E.R., Sarah R.W.* Inflammation and hypoxia: HIF and PHD isoform selectivity // *Trends Mol. Med.* 2019. V. 25. № 1. P. 33.
<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2018.10.006>
 76. *Wei J.F., Huang F.Y., Xiong T.Y. et al.* Acute myocardial injury is common in patients with COVID-19 and impairs their prognosis // *Heart*. 2020. V. 106. № 15. P. 1154.
<https://doi.org/10.1136/heartjnl-2020-317007>
 77. *Weir E.K., López-Barneo J., Buckler K.J., Archer S.L.* Acute oxygen sensing mechanisms // *N. Engl. J. Med.* 2005. V. 353. № 19. P. 2042.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra050002>
 78. *Weir E.K., Stephen L.A.* The role of redox changes in oxygen sensing // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2010. V. 174. № 3. P. 182.
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2010.08.015>
 79. *Wong C.C., Gilkes D.M., Zhang H. et al.* Hypoxia-inducible factor 1 is a master regulator of breast cancer metastatic niche formation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011. V. 108. № 39. P. 16369.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1113483108>
 80. *Yamamoto H., Nishi S., Tomo T. et al.* 2015 Japanese Society for Dialysis Therapy: guidelines for renal anemia in chronic kidney disease // *Renal Replacement Therapy*. 2017. № 3. P. 36.
<https://doi.org/10.1186/s41100-017-0114-y>
 81. *Yamamoto H., Nobori K., Matsuda Y. et al.* Efficacy and safety of molidustat for anemia in ESA-naïve nondialysis patients: a randomized, phase 3 trial // *Am. J. Nephrol.* 2021. V. 52. № 10–11. P. 871–883.
<https://doi.org/10.1159/000518071>
 82. *Yang Y., Yu X., Zhang Y. et al.* Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor roxadustat (FG-4592) protects against cisplatin-induced acute kidney injury // *Clin. Sci.* 2018. V. 132. № 7. P. 825.
<https://doi.org/10.1042/CS20171625>
 83. *Yoo Y.J., Kim H., Park S.R., Yoon Y.J.* An overview of rapamycin: from discovery to future perspectives // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2017. V. 44. № 4–5. P. 537–553.
<https://doi.org/10.1007/s10295-016-1834-7>
 84. *Yuan G., Vasavda C., Peng Y.J. et al.* Protein kinase G-regulated production of H₂S governs oxygen sensing // *Sci. Signal.* 2015. V. 8. № 373. P. ra37.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2005846>
 85. *Yin K.J., Olsen K., Hamblin M. e. al.* Vascular endothelial cell-specific microRNA-15a inhibits angiogenesis in hindlimb ischemia // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 32. P. 27055
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.364414>
 86. *Zhao C., Popel A.S.* Computational Model of MicroRNA Control of HIF-VEGF Pathway: Insights into the Pathophysiology of Ischemic Vascular Disease and Cancer // *PLoS Comput Biol.* 2015. V. 11. № 11. P. e1004612.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004612>
 87. *Zhao Q., Li Y., Tan B.B. et al.* HIF-1 α induces multi-drug resistance in gastric cancer cells by inducing MiR-27a // *PloS One*. 2015. V. 10. № 8. e0132746.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132746>
 88. *Zhao Z.Y., Gao Y.Y., Gao L. et al.* Protective effects of bellidifolin in hypoxia-induced pheochromocytoma cells (PC12) and underlying mechanisms // *J. Toxicol. Environ. Health A*. 2017. V. 80. № 22. P. 1187.
<https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1367114>
 89. *Zhang P., Du J., Zhao H. et al.* Radioprotective effects of roxadustat (FG-4592) in haematopoietic system // *J. Cell. Mol. Med.* 2019. V. 23. № 1. P. 349.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.13937>
 90. *Zhang Y., Ren S., Xue H. et al.* Roxadustat in treating anemia in dialysis patients (ROAD): protocol and rationale of a multicenter prospective observational cohort study // *BMC Nephrology*. 2021. V. 22. № 1. P. 28.
<https://doi.org/10.1186/s12882-021-02229-w>
 91. *Zhu H., Wang X., Han Y. et al.* Icaritin promotes the migration of bone marrow stromal cells via the SDF-1 α /HIF-1 α /CXCR4 pathway // *Drug Des. Devel. Ther.* 2018. № 12. P. 4023.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S179989>
 92. *Zhu Y., Wang Y., Jia Y., Xu J., Chai Y.* Roxadustat promotes angiogenesis through HIF-1 α /VEGF/VEGFR2 signaling and accelerates cutaneous wound healing in diabetic rats // *Wound Repair Regen.* 2019. V. 27. № 4. P. 324.
<https://doi.org/10.1111/wrr.12708>
 93. *Ziello J.E., Jovin I.S., Huang Y.* Hypoxia-Inducible Factor (HIF)-1 regulatory pathway and its potential for therapeutic intervention in malignancy and ischemia // *Yale J. Biol. Med.* 2007. V. 80. № 2. P. 51.

Hif and Prolyl Hydroxylase Inhibitors – a New Pharmacological Target and a Medicinal Drugs Class Stimulating Not Only Erythropoiesis, But More

D. V. Kurkin^{1, *}, D. A. Bakulin¹, E. E. Abrosimova¹, and I. N. Tyurenkov¹

¹*Volgograd State Medical University, Volgograd, 400087 Russia*

**e-mail: strannik986@mail.ru*

Abstract—The article reviews the works of domestic and foreign scientists devoted to hypoxia and means of its correction. Hypotheses of changes in the body's reactivity under conditions of oxygen deficiency, as well as the history of discovery, structure, activation pathways and biological effects of HIF, a factor induced by hypoxia, are considered. Conditions are described in which this factor acts as a cytoprotector, as well as those conditions under which HIF can be a pathological link. HIF inhibitors—roxadustat, vadadustat, molidustat, daprodustat, desidustat, enarodustat, including their use and side effects are considered and described.

Keywords: hypoxia, HIF, HIF inhibitors, angiogenesis, erythropoiesis, inflammation, immunity, roxadustat

УДК 612.825.4

ОРБИТОФРОНТАЛЬНАЯ КОРА В СИСТЕМЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО УПРАВЛЕНИЯ АВТОНОМНЫМИ ФУНКЦИЯМИ

© 2022 г. В. Г. Александров^{а, *}, Е. А. Губаревич^а, Т. Н. Кокурина^а,
Г. И. Рыбакова^а, Т. С. Туманова^{а, б}

^аИнститут физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия

^бРоссийский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, 191186 Россия

*e-mail: alexandrovv@infran.ru

Поступила в редакцию 28.02.2022 г.

После доработки 05.03.2022 г.

Принята к публикации 10.03.2022 г.

Выяснение механизмов, обеспечивающих участие различных областей коры больших полушарий в центральном управлении автономными функциями является одной из фундаментальных задач нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем. Функции коры орбитофронтальной поверхности полушарий мало изучены в контексте автономного контроля. Основной целью настоящего обзора является рассмотрение данных нейроморфологических и нейрофизиологических исследований, которые свидетельствуют о взаимодействии этой области коры со структурами центральной автономной сети, а также с другими областями коры, участвующими в управлении автономными функциями.

Ключевые слова: орбитофронтальная кора, префронтальная кора, автономный контроль, вегетативные функции, центральная автономная сеть, висцеральные системы, нейровисцеральная интеграция

DOI: 10.31857/S0301179822030031

ВВЕДЕНИЕ

Исследование роли коры больших полушарий в управлении функциями внутренних органов остается одним из приоритетных направлений нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем начиная с конца XIX в., когда было обнаружено, что “фарадизация”, то есть раздражение переменным током, передних отделов коры больших полушарий экспериментального животного вызывает изменения в деятельности сердца [2]. К настоящему времени достигнут существенный прогресс в этом направлении; на латеральной и медиальной поверхностях больших полушарий идентифицированы области префронтальной коры (prefrontal cortex, PFC), содержащие сенсорно-моторные представительства ряда висцеральных систем, в том числе систем кровообращения и дыхания [7, 12]. Кроме того, имеются данные, в том числе полученные с использованием современных методов нейровизуализации, которые позволяют полагать, что в управление автономных функций помимо указанных областей, вовлекаются многочисленные области коры, функции которых ранее не связывали с автономным контролем [36, 50]. В частности, все больше внимания уделяется областям коры, расположенным на орбитофронтальной поверхности коры боль-

ших полушарий (orbitofrontal cortex, OFC). Основная цель настоящего обзора состоит в том, чтобы определить перспективные направления исследования автономных функций OFC. Для этого предполагается прежде всего кратко рассмотреть важнейшие концепции, описывающие закономерности организации центрального, в частности кортикального, управления автономными функциями. Затем будет описано клеточное строение и топография OFC, очерчены ее связи на разных уровнях нервной оси, включая кортикальный. В последнем разделе охарактеризованы современные представления о функциях OFC и проанализированы экспериментальные данные, свидетельствующие об участии OFC в контроле автономных функций. В заключительной части обзора сформулирована гипотеза возможных направлений исследования автономных функций OFC.

СОВРЕМЕННЫЕ КОНЦЕПЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ АВТОНОМНЫХ ФУНКЦИЙ

К настоящему времени сформулированы две основные концепции, описывающие организацию центрального нервного контроля автономных

функций, причем каждая из них является результатом обобщения результатов большого числа экспериментальных исследований и клинических наблюдений. Это концепция центральной автономной сети (central autonomic network, CAN), и восьмиуровневая иерархическая модель нейровисцеральной интеграции (neurovisceral integration, NVI). Кроме того, еще две, более широкие концепции, а именно концепция церебровисцеральных осей (brain-visceral axis) и некоторые сетевые модели, интегрируют центральные и периферические механизмы нервного контроля автономных функций. Их рассмотрение выходит за пределы настоящего обзора.

Центральная автономная сеть

Концепция CAN была предложена Э. Бенарохом еще 1993 г. [13]. В дальнейшем автор неоднократно возвращался к этой концепции, совершенствуя ее и используя при обсуждении таких, например, проблем, как нарушения автономных функций при нейродегенеративных заболеваниях [16, 17] и стрессе [33]. Первоначально эта концепция была построена на обобщении результатов экспериментальных исследований, выполненных на животных, и клинических наблюдений, сделанных на пациентах с повреждениями головного мозга, сопровождавшихся нарушениями автономных функций. Впоследствии она была блестяще подтверждена при помощи нейровизуализационных методов [35, 49]. CAN получает и интегрирует висцеросенсорную, гуморальную и экстероцептивную информацию, также контролирует и координирует преганглионарные, нейросекреторные и респираторные выходы.

CAN представляет собой многоуровневую систему, в состав которой входят структуры, расположенные на всем протяжении нервной оси, от коры больших полушарий и до продолговатого мозга. В нее включают островковую (insular cortex, IC) и переднюю поясную (anterior cingulate cortex, ACC) кору, структуры гипоталамуса (hypothalamus, HYP), центральное серое вещество (periaqueductal gray, PAG), парабрахиальные ядра моста (parabrachial nuclei, PBN), ядро одиночного пути (nucleus tractus solitarius, NTS), ретикулярную формацию вентролатеральной области продолговатого мозга (ventrolateral medulla, VLM) и некоторые другие. Эти структуры охвачены многочисленными, в большинстве случаев реципрокными связями, причем эти связи неоднократно дублируются. Еще одним важным свойством CAN является ее нейрхимическая сложность. Наконец, характеризуя CAN, следует отметить то ее свойство, которое описывают как “state-dependent activity” [49], что следует понимать как зависимость состояния CAN и, соответственно, функции центрального автономного контроля, от физиологического и поведенческого состояния особи.

Описывая функции CAN, автор концепции замечает, что она является “интегральным компонентом внутренней регуляторной системы, посредством которой мозг контролирует висцеромоторные, нейроэндокринные, болевые и поведенческие ответы, существенные для выживания” [13]. Используя терминологию В.Н. Черниговского [3], можно сказать, что CAN обеспечивает интеграцию поведения висцеральных систем в текущий гомеостатический и поведенческий контекст. При всей сложности структуры и функций CAN выходы из нее немногочисленны: это, главным образом, преганглионарные нейроны автономной нервной системы и бульбоспинальные респираторные нейроны.

Восьмиуровневая иерархическая модель NVI

Концепция CAN оказалась весьма полезной не только для рационального планирования дальнейших исследований в области нейрофизиологии висцеральных систем, но и послужила основой для построения еще более широкой концепции, которой является восьмиуровневая иерархическая модель NVI. Эта модель предусматривает, в частности, участие в контроле автономных функций, помимо кортикальных представительства висцеральных систем, входящих в состав CAN, также и тех областей коры, которые не имеют многочисленных прямых выходов в CAN, и функции которых обычно не связывают с автономным контролем [50, 51]. К ним относятся, в частности, области PFC, расположенные на орбитофронтальной поверхности полушарий (orbitofrontal cortex, OFC). Вместе с областями PFC, расположенными на медиальной (medial prefrontal cortex, mPFC) и латеральной (lateral prefrontal cortex, lPFC) поверхностях полушарий, OFC образует шестой уровень NVI.

Примечательно, что, характеризуя функции, которые реализуются на пятом, шестом и более высоких уровнях NVI, авторы восьмиуровневой модели постепенно отходят от нейрофизиологической их интерпретации в сторону, скорее, нейропсихологической. Так, если функции пятого уровня, а это уровень миндалевидного комплекса и структур основания переднего мозга, описываются как интегрированный контроль соматических, висцеральных и когнитивно-аттенциональных реакций на стимулы, то функции шестого уровня характеризуются как “регулирование, основанное на восприятии текущего висцерального и соматического состояния”. Седьмой уровень, по мнению авторов, обеспечивает регулирование, основанное на концептуализации сенсорных входов и прошлого опыта, а восьмой — усиление, поддержание или подавление представлений на основе текущих целей [50]. Следует, по-видимо-

му, признать, что подобный подход в значительной мере основан на использовании результатов поведенческих и нейровизуализационных исследований. Он вполне оправдывает себя при построении моделей, описывающих процессы, которые обеспечивают интеграцию поведения висцеральных систем в текущий и прогнозируемый поведенческий контекст. Вместе с тем, этот подход не устраняет необходимости более детального исследования процессов, протекающих на каждом из высоких уровней NVI, с использованием методов и методологии нейрофизиологического исследования. В этом контексте особый интерес, на наш взгляд, представляют процессы, протекающие на шестом уровне.

Шестой уровень NVI обеспечивается областями PFC, часть из которых достаточно подробно изучена, причем не только в поведенческом контексте, но и в контексте контроля автономных функций. Это в полной мере относится к областям коры, расположенным на медиальной и латеральной поверхностях полушария. Пре- и, в особенности, субгенуальная кора, так же, как и кора островковой области отвечает всем основным критериям, в соответствии с которыми традиционно идентифицируют так называемые “автономные” области коры [6, 7, 15]. Отчасти этим критериям соответствует и OFC, однако прямых экспериментальных данных, свидетельствующих об участии этой области коры в контроле автономных функций значительно меньше [7]. Повидимому, перспективной областью нейрофизиологических исследований может стать изучение механизмов взаимодействия OFC с областями медиальной и латеральной PFC, которые содержат представительства автономных систем и входят в состав CAN, а вместе с OFC образуют шестой уровень иерархической модели NVI. Для того, чтобы успешно развивать исследования в этой области необходимо проанализировать данные о структуре и системе связей OFC, прежде всего внутри CAN и на уровне коры, а также результаты нейрофизиологических исследований, прямо или косвенно свидетельствующие об участии этой области коры в контроле автономных функций.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И СИСТЕМА СВЯЗЕЙ ОРБИТОФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ

В настоящем разделе структура и система связей OFC будет рассматриваться на основе экспериментальных данных, полученных на грызунах, главным образом крысах, и лишь отчасти на приматах, включая человека. Результаты нейроморфологических исследований OFC, выполненных на этих объектах, не только позволяют сделать некоторые выводы о функциях разных частей

OFC, но и необходимы для эффективного планирования нейрофизиологических экспериментов и корректной интерпретации полученных данных.

Топография и клеточное строение OFC

Топографически OFC млекопитающих определяют как кору на вентральной поверхности лобной доли вблизи лобного полюса полушария и рассматривают как часть префронтальной коры [45, 53]. У грызунов она распространяется латерально на дно и дорсальный край ринальной борозды [27, 29]. У крыс с OFC граничат агранулярная инсулярная, грушевидная, прелимбическая, фронтальная ассоциативная кора, вторичная моторная кора, ограда, инфраламбическая кора и обонятельные ядра [40].

Клеточное строение OFC грызунов, в частности крыс, достаточно однообразно, и разные ее отделы представляют собой варианты агранулярного мезокортекса. Тем не менее, гистологические исследования позволили установить, что клеточное строение OFC крыс и мышей отличается от цитоархитектоники соседних областей коры, а внутри самой OFC следует выделить ряд подобластей [39, 55], причем следует заметить, что строение OFC мышей в целом подобно строению OFC крыс [54]. Вместе с тем, границы OFC разные исследователи очерчивают по-разному и внутри этой области выделяют от четырех до четырнадцати подобластей [10]. Креттек и Прайс в своих классических работах 1977 года выделили медиальную (MO), вентральную (VO), вентролатеральную (VLO) и латеральную (LO) орбитальные области [29, 30]. В целом, подобного деления в дальнейшем придерживались и другие авторы, в том числе и авторы популярного атласа мозга крысы [40]. Однако позже из состава инсулярной коры крысы была выделена дорсолатеральная орбитальная кора (DLO), которую расположили кпереди от ограды (клауструма), в то время как кору, сопровождающую ограду (клаустрокортекс) стали рассматривать как собственно инсулярную кору [10, 40]. Вместе с тем, некоторые авторы, наоборот, включают в состав OFC крысы передние отделы клаустрокортекса [27, 37, 43], а другие исключают из состава OFC такие “классические” области, как, например, MO или VLO [48, 54]. Следует отметить, что области, на которые делится OFC крысы, вытянуты в rostro-caudальном направлении и некоторые из них делят на передние и задние отделы, функции которых могут существенно отличаться. Результаты гистологических исследований позволили выделить заднюю VLO (posterior, pVLO), а DLO разделена на DLO I и DLO II [55]. В результате анализа связей и изучения функций LO она была разделена на заднюю (posterior LO, pLO) и переднюю (ante-

rior LO, aLO); на переднюю и заднюю части была разделена и VO [9, 10].

Вопрос о гомологии OFC грызунов и других видов достаточно сложен и его обсуждение выходит далеко за рамки настоящего обзора. Во всяком случае считается, что OFC грызунов гомологична примерно одной трети каудальной орбитомедиальной префронтальной коры обезьян [27, 39, 41, 48, 52]. Предполагается, что области MO, VLO, LO, DLO крыс могут быть сопоставлены, соответственно, поля 14, 13a, 13m/l, 12o у обезьян [9].

Связи OFC и таламуса

Следует отметить, что в настоящее время считается, что цитоархитектонический критерий для выяснения гомологии областей коры разных отрядов млекопитающих имеет ограниченное применение. Эта характеристика используется, главным образом, при изучении гомологии областей коры близкородственных видов. [52]. Ограниченность этого критерия проявилась и при попытках определить границы отдельных областей внутри OFC крыс и других грызунов, у которых эта значительная по площади область коры представляет собой достаточно однородный агранулярный мезокортекс. Поэтому при описании структуры OFC изучение клеточного строения разных областей OFC дополняют анализом их связей, и прежде всего с ядрами таламуса.

В середине прошлого века был предложен критерий специфической связности префронтальной области коры с медиодорсальным ядром таламуса (MD) и оценки плотности связей разных ее областей с определенными частями MD [9, 10, 46, 52]. Было установлено, что OFC кроликов и кошек имела связи с MD, подобные префронтальной коре приматов [52]. В дальнейшем выяснилось, что MD связана со всеми областями PFC как у грызунов, так и у приматов; наличие таких связей остается важным критерием для определения принадлежности той или иной области к PFC [27, 29, 37]. На неоднородность нервных связей между различными областями OFC и MD указывалось уже в ранних работах [29], и это наблюдение было подтверждено дальнейшими исследованиями [4, 10, 31, 32, 37]. По особенностям цито- и хемоархитектоники MD крыс подразделяется на медиальный (MDm), центральный (MDc) и латеральный сегмент (MDl). Утверждается, что каждая орбитальная область у крыс связана с определенным сегментом медиодорсального ядра [42]. Одновременно, было установлено, что каждое подразделение MD обладает своим уникальным набором связей с другими областями PFC. Так, MDm проецируется преимущественно на прелимбическую (PL), инфраламбическую (IL) и агранулярную IC; MDc – в агранулярную IC; MDl – на PL и передние поясные области [31, 32].

По данным других авторов, у крыс медиальный сегмент MD также дает проекции на орбитальную область, причем паттерны проекций MD приматов и грызунов в орбитальной префронтальной коре аналогичны, и на основании этого области OFC крыс и приматов признаны гомологичными [39, 48]. Именно дальнейшее уточнение паттернов проекций этого сегмента таламуса привело к разделению ранее единых подобластей OFC в rostroкаудальном направлении, как, например в случае с ALO и PLO [9, 10]. Недавние исследования показали, что проекции трех сегментов MD перекрываются в большей степени, чем предполагалось ранее [31, 32], что они преимущественно ипсилатеральны [4], и что как у крыс, так и у приматов MD является частью трех обособленных корково-подкорковых путей [22]. Интересно, что до сих пор мало изучено субмедиальное ядро (submedial, Sm), первое ядро в котором были обнаружены связи с OFC [29]. Все области OFC так или иначе реципрокно связаны с этим ядром, причем OFC является основным адресатом этого сегмента таламуса [4, 5, 9, 10, 42]. Относительно недавно было показано, что с этим ядром связаны два независимых таламокортикальных пути – дорсальный (нейроны Smd избирательно проецируются в VLO) и вентральный (Smv, нейроны связаны с LO и VO) [31, 32]. Кроме того, была установлена связь OFC не только с субмедиальным, но и с париетальным ядром таламуса [4, 29, 42]. Поскольку проекции, исходящие из различных областей OFC и областей PFC, содержащих представителя висцеральных систем конвергируют на уровне MD, можно полагать, что это ядро участвует в реализации процессов их взаимодействия на шестом уровне NVI.

Интракортикальные связи OFC

Интракортикальные связи OFC к настоящему времени описаны достаточно подробно. По данным одного из ранних морфологических исследований, OFC связана с многочисленными областями фронтальной, теменной и затылочной коры [42]. При этом каждое из полей, входящих в состав OFC, обладает характерным набором интракортикальных связей, которые во многих случаях являются реципрокными. Было замечено, кроме того, что наиболее широкими связями обладают VO и VLO, связи MO и LO гораздо уже.

Что касается связей с областями коры, образующими вместе с OFC шестой уровень NVI, то было обнаружено, что с поясной корой связаны MO и VO, а с IC, главным образом, VLO и LO. Позднее было подтверждено наличие связей между IC и VLO, но продемонстрировали также связи между IL и VLO, причем как ипси, так и контрлатеральные [26].

Проекции VO перекрываются с проекциями вентролатеральной орбитальной коры (VLO) [25], причем проекции из VO распределяются в медиальную (фронтальную) агранулярную кору, переднюю поясную извилину, сенсомоторную, заднюю теменную, латеральную агранулярную ретросплениальную и височную ассоциативную область коры. Здесь же наблюдаются и проекции МО, но в меньшей степени. Отмечается, что основными корковыми мишенями МО являются орбитальная, вентромедиальная префронтальная (vmPFC), агранулярная островковая, грушевидная, ретросплениальная и парагиппокампальная области коры [25]. Несмотря на то, что МО и VO проецируются довольно редко на LO по сравнению с другими кортикальными областями, некоторые авторы считают, что МО/VO также может служить связующим звеном между LO и mPFC [25, 27]. Ипсилатеральные и контрлатеральные связи обнаружены как между VLO и IL, так и между LO и IL. С агранулярной инсулярной и LO и VLO связаны значительно слабее. Резюмируя имеющиеся данные об интракортикальных связях OFC, можно сказать, что эта область коры получает сенсорные входы многих модальностей, в том числе висцеросенсорной. Однако набор кортикальных связей каждой из выделенных в настоящее время областей OFC является специфичным. Это касается и связей с областями коры, образующими вместе с OFC шестой уровень NVI. Например, МО связана по преимуществу с IC [25], а VLO и LO не только с IC [42], но и с IL [26]. Очевидно, что процессы, происходящие при активации этих связей, также представляют интерес с точки зрения механизмов, обеспечивающих функционирование шестого уровня нейровисцеральной интеграции.

Прямые связи OFC со структурами CAN

Особый интерес представляют собой прямые связи OFC с структурами, образующими CAN, поскольку наличие таких связей доказывает участие областей OFC в управлении автономными функциями.

Важнейшей *подкорковой структурой*, входящей в состав CAN является миндалевидный комплекс (AMG). Установлено, что OFC связана с AMG реципрокными связями, причем каждая из идентифицированных областей имеет уникальный набор связей с различными частями AMG [37, 43]. Часть областей образует связи по преимуществу с базолатеральными отделами AMG. Другие области, например МО, более тесно связаны с центральным ядром AMG, которое является своеобразным выходом из миндалевидного комплекса, образующим проекции к нижележащим автономным центрам.

На уровне межучного мозга основной мишенью проекций, исходящих из OFC являются HYP и PAG. Проекция в перифорникальную, дорсальную и заднюю части HYP, а также в латеральную гипоталамическую область (LHA) образуют VO и LO [20]. Кроме того, в LHA проецируются нейроны DLO и LO [15]. Установлено, что LO и VLO образуют хорошо выраженные проекции не только к HYP, но и к PAG [8, 14].

Прямых проекций из OFC к структурам CAN, расположенным на уровне продолговатого мозга, к настоящему времени не обнаружено. Однако области HYP и PAG, которые связаны с OFC, проецируются в VLM, одну из областей продолговатого мозга, в составе которой имеются нейроны, входящие в состав нейронных сетей и рефлекторных дуг, регулирующих активность автономных систем, в том числе систем дыхания и кровообращения [13]. Известно, что IL посылает прямые проекции к AMG, в том числе к ACe, а также к структурам HYP и PAG, причем сходный паттерн проекций демонстрирует IC [6, 7].

Таким образом, можно полагать, что взаимодействие областей коры, обеспечивающих шестой уровень нейровисцеральной интеграции осуществляется не только на уровне коры, посредством интракортикальных связей и на уровне MD, но и на многих уровнях CAN, там, где конвергируют проекции их IL, IC и OFC.

АВТОНОМНЫЕ ЭФФЕКТЫ СТИМУЛЯЦИИ И ПОВРЕЖДЕНИЯ ОРБИТОФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ

Во второй половине прошлого столетия было установлено, что стимуляция и разрушение орбитофронтальной поверхности больших полушарий приводит к изменениям в состоянии многих висцеральных систем, в том числе к изменениям гемодинамики, паттерна дыхания, моторной активности желудка и кишечника различных экспериментальных животных [19, 24, 28, 38]. Были выдвинуты некоторые предположения о возможных механизмах реализации этих эффектов, предполагалось, в частности, что вазомоторные эффекты стимуляции OFC реализуются при участии HYP [47, 56]. В дальнейшем, внимание исследователей в большей степени было обращено на выяснение роли OFC в реализации когнитивных функций и связанных с ними эмоциональных реакций. Примером могут служить многочисленные исследования, посвященные роли OFC в процессе принятия решений, направленных на получение вознаграждения [11, 34, 44]. При этом интерес к автономным функциям PFC не угас, но основным объектом исследований стала сначала mPFC, в особенности IL, а затем и IC [6, 7]. Исследованию автономных функций OFC уделялось значительно меньше внимания,

хотя исследования в этом направлении не прекращались. В экспериментах на приматах было показано, что OFC участвует в управлении функциями дыхания и кровообращения [21]. В частности, стимуляция 13 зоны коры приводят к изменениям АД, ЧСС, сердечной динамики, частоты дыхания и температуры кожи. У пациентов с повреждениями в OFC ослабляется способность продемонстрировать физиологические эмоциональные сигналы или, так называемые, “соматические маркеры” [11, 18], например, реакцию кожной проводимости (SCR), которая генерируется деятельностью вегетативной нервной системы [8]. Были высказаны предположения о том, что внутри OFC приматов можно выделить специализированные висцеромоторные и висцеросенсорные области [41], однако эксперименты, выполненные на грызунах, это предположение не подтвердили [8]. У человека OFC связана с НУР, причем при помощи метода fMRI доказано, что эти связи вполне упорядочены [23], поскольку структуры медиального НУР и ЛНА демонстрируют функциональную связь с разными частями OFC. В частности, медиальные области OFC контролируют дорсо-медиальное и переднее ядра НУР, которые располагаются в его медиальной части и, в свою очередь, держат под контролем симпатический отдел автономной нервной системы (ANS). Эти данные объясняют тот клинический факт, что повреждение медиальной OFC приводит к исчезновению кожно-гальванической реакции, сопровождающей процесс принятия решения [57].

В целом, анализ литературных источников показывает, что, несмотря на длительную историю нейрофизиологических исследований OFC, классические нейрофизиологические методы, такие как микроэлектростимуляция или микро-аппликация биологически активных веществ практически не применялись для изучения ее автономных функций. Большая часть подобных исследований была выполнена давно, на разных экспериментальных животных и с использованием достаточно устаревших методов. Нейрофизиологические исследования автономных функций OFC необходимо возобновить, опираясь на современные представления о структуре и системе связей этой области коры, используя современные методы микростимуляции, а также регистрации и обработки активности висцеральных систем [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных источников показывает, что OFC обладает достаточно сложным клеточным строением, образует многочисленные и достаточно хорошо изученные связи на кортикальном уровне, в том числе с другими областями PFC, содержащими представительства автоном-

ных систем, а также со многими структурами CAN. Автономные эффекты стимуляции различных областей OFC изучены недостаточно, однако несмотря на это, ее участие в управлении автономными функциями можно считать доказанным. На наш взгляд, в настоящее время требуются экспериментальные исследования два основных вопроса, касающихся автономных функций OFC. Первый – это вопрос о функциональной специализации областей OFC с точки зрения управления автономными функциями. Второй, по-видимому, более сложный – вопрос о механизмах взаимодействия полей OFC с областями “висцеральной” PFC и структурами CAN, обеспечивающих функционирование шестого уровня NVI. Первый вопрос может решаться классическими методами нейрофизиологического исследования с опорой на современные данные о структурно-функциональной неоднородности OFC. Второй вопрос гораздо более сложен, поскольку морфологические данные указывают на возможное взаимодействие OFC с mPFC и IC на разных уровнях нервной оси: как посредством прямых кортико-кортикальных связей, так и в результате конвергенции нисходящих проекций на нейронах МД и структур CAN. Возможно, этот вопрос следует решать, следуя методологии иерархической модели NVI: воздействуя на OFC и взаимодействующие с ней области коры, оценивать состояние основных выходов из CAN по вариабельности сердечного ритма и изменению паттерна дыхания [50, 51]. Следует, однако, признать, что этот подход требует более подробного обоснования и обсуждения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В.Г., Губаревич Е.А., Туманова Т.С. и др. Влияние электростимуляции орбитофронтальной коры на систему кровообращения анестезированной крысы // Интегративная физиология. 2021. Т. 2. № 3. С. 297. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-3-297-306>
2. Бехтерев В.М., Миславский Н.А. О влиянии мозговой коры и центральных областей мозга на давление крови и деятельность сердца // Арх. психиатр. нейрол. и судебн. психопатол. 1886. Т. 8. № 3. С. 1.
3. Черниговский В.Н. Деятельность висцеральных систем как особая форма поведения // Механизмы деятельности головного мозга. Тбилиси. 1975. С. 478.
4. Alcaraz F, Marchand A.R., Courtand G. et al. Parallel inputs from the mediodorsal thalamus to the prefrontal cortex in the rat // European J. Neurosci. 2016. V. 44. № 3. P. 1972. <https://doi.org/10.1111/ejn.13316>
5. Alcaraz F, Marchand A.R., Vidal E. et al. Flexible use of predictive cues beyond the orbitofrontal cortex: role of the submedial thalamic nucleus // J. Neurosci. 2015.

- V. 35. № 38. P. 13183.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1237-15>
6. *Aleksandrov V.G., Aleksandrova N.P.* The role of the insular cortex in the control of visceral functions // *Human Physiology*. 2015. V. 41. № 5. P. 553–561.
<https://doi.org/10.1134/S0362119715050023>
 7. *Aleksandrov V.G., Kokurina T.N., Rybakova G.I., Tumanova T.S.* Autonomic functions of the prefrontal cortex // *Human Physiology*. 2021. V. 47. № 5. P. 582.
<https://doi.org/10.1134/S0362119721050029>
 8. *Babalian A., Eichenberger S., Bilella A. et al.* The orbitofrontal cortex projects to the paravox nucleus of the ventrolateral hypothalamus and to its targets in the ventromedial periaqueductal grey matter // *Brain Structure and Function*. 2019. № 224. P. 293.
<https://doi.org/10.1007/s00429-018-1771-5>
 9. *Barreiros I.V., Ishii H., Walton M.E., Panayi M.C.* Defining an orbitofrontal compass: functional and anatomical heterogeneity across anterior-posterior and medial-lateral axes // *Behav. Neurosci.* 2021. V. 135. № 2. P. 165.
<https://doi.org/10.1037/bne0000442>
 10. *Barreiros I.V., Panayi M.C., Walton M.E.* Organization of afferents along the anterior-posterior and medial-lateral axes of the rat orbitofrontal cortex // *Neuroscience*. 2021. V. 460. P. 53.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience>
 11. *Bechara A., Damasio H., Damasio A.R.* Emotion, decision making and the orbitofrontal cortex // *Cereb. Cortex*. 2000. V. 10. № 3. P. 295.
<https://doi.org/10.1093/cercor/10.3.295>
 12. *Benarroch E.E.* Insular cortex: functional complexity and clinical correlations // *Neurology*. 2019. V. 93. № 21. P. 932.
<https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000008525>
 13. *Benarroch E.E.* The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective // *Mayo. Clin. Proc.* 1993. V. 68. № 10. P. 988.
[https://doi.org/10.1016/s0025-6196\(12\)62272-1](https://doi.org/10.1016/s0025-6196(12)62272-1)
 14. *Bilella A., Alvarez-Bolado G., Celio M.R.* The Foxb1-expressing neurons of the ventrolateral hypothalamic paravox nucleus project to defensive circuits // *J. Comp. Neurol.* 2016. V. 524. № 15. P. 2955.
<https://doi.org/10.1002/cne.24057>
 15. *Cechetti D.F., Saper C.B.* Role of the cerebral cortex in autonomic function / *Central Regulation of Autonomic Functions*, New York: Oxford University Press. 1990. P. 208.
 16. *Cersosimo M.G., Benarroch E.E.* Central control of autonomic function and involvement in neurodegenerative disorders // *Handb. Clin. Neurol.* 2013. V. 117. P. 45.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53491-0.00005-5>
 17. *Coon E.A., Cutsforth-Gregory J.K., Benarroch E.E.* Neuropathology of autonomic dysfunction in synucleinopathies // *Mov. Disord.* 2018. V. 33. № 3. P. 349.
<https://doi.org/10.1002/mds.27186>
 18. *Damasio A.R.* The somatic marker hypothesis and the possible functions of the prefrontal cortex // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1996. V. 351. № 1346. P. 1413.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0125>
 19. *Delgado J.M., Livingstone R.B.* Some respiratory, vascular and thermal responses to stimulation of orbital surface of frontal lobe // *J. Neurophysiol.* 1948. V. 11. № 1. P. 39.
<https://doi.org/10.1152/jn.1948.11.1.39>
 20. *Floyd N.S., Price J.L., Ferry A. et al.* Orbitomedial prefrontal cortical projections to hypothalamus in the rat // *J. Comp. Neurol.* 2001. V. 432. № 3. P. 307.
<https://doi.org/10.1002/cne.1105>
 21. *Fuster J.M.* The prefrontal cortex / J.M. Fuster. London: Academic Press. Elsevier. 2008. 425 p.
 22. *Georgescu I.A., Popa D., Zagrean L.* The anatomical and functional heterogeneity of the mediodorsal thalamus // *Brain. Sci.* 2020. V. 10. № 9. P. 624.
<https://doi.org/10.3390/brainsci10090624>
 23. *Hirose S., Osada T., Ogawa A. et al.* Lateral-medial dissociation in orbitofrontal cortex-hypothalamus connectivity // *Front. Hum. Neurosci.* 2016. V. 10. P. 244.
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2016.00244>
 24. *Hoff E.C., Kell J.F.Jr., Carroll M.N.Jr.* Effects of cortical stimulation and lesions on cardiovascular function // *Physiol. Rev.* 1963. V. № 43. P. 68.
<https://doi.org/10.1152/physrev.1963.43.1.68>
 25. *Hoover W.B., Vertes R.P.* Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat // *J. Comp. Neurol.* 2011. V. 519. № 18. P. 3766.
<https://doi.org/10.1002/cne.22733>
 26. *Illig K.R.* Projections from orbitofrontal cortex to anterior piriform cortex in the rat suggest a role in olfactory information processing // *J. Comp. Neurol.* 2005. V. 488. № 2. P. 224.
<https://doi.org/10.1002/cne.20595>
 27. *Izquierdo A.* Functional heterogeneity within rat orbitofrontal cortex in reward learning and decision making // *J. Neurosci.* 2017. V. 37. № 44. P. 10529.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1678-17.2017>
 28. *Kaada B.R.* Somato-motor, autonomic and electrocorticographic responses to electrical stimulation of 'rhinencephalic' and other structures in primates, cat and dog. A study of responses from the limbic, subcallosal, orbito-insular, piriform and temporal cortex, hippocampus-fornix and amygdala // *Acta Physiol. Scand.* 1951. Suppl. 24. № 83. P. 1
 29. *Krettek J.E., Price J.L.* The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat // *J. Comp. Neurol.* 1977. V. 171. № 2. P. 157.
<https://doi.org/10.1002/cne.901710204>
 30. *Krettek J.E., Price J.L.* Projections from the amygdaloid complex to the cerebral cortex and thalamus in the rat and cat // *J. Comp. Neurol.* 1977. V. 172. № 4. P. 687.
<https://doi.org/10.1002/cne.901720408>
 31. *Kuramoto E., Iwai H., Yamanaka A. et al.* Dorsal and ventral parts of thalamic nucleus submedius project to different areas of rat orbitofrontal cortex: a single neuron-tracing study using virus vectors // *J. Comp. Neurol.* 2017. V. 525. № 18. P. 3821.
<https://doi.org/10.1002/cne.24306>

32. Kuramoto E., Pan S., Furuta T. et al. Individual medio-dorsal thalamic neurons project to multiple areas of the rat prefrontal cortex: a single neuron-tracing study using virus vectors // *J. Comp. Neurol.* 2017. V. 525. № 1. P. 166.
<https://doi.org/10.1002/cne.24054>
33. Lamotte G., Shouman K., Benarroch E.E. Stress and central autonomic network // *Auton. Neurosci.* 2021. V. 235. P. 102870.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2021.102870>
34. Loh M.K., Ferrara N.C., Torres J.M., Rosenkranz J.A. Medial orbitofrontal cortex and nucleus accumbens mediation in risk assessment behaviors in adolescents and adults // *Neuropsychopharmacology*. 2022. Epub ahead of print.
<https://doi.org/10.1038/s41386-022-01273-w>
35. Macey P.M., Ogren J.A., Kumar R., Harper R.M. Functional imaging of autonomic regulation: methods and key findings // *Front. Neurosci.* 2016. V. 26. № 9. P. 513.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00513>
36. McIntosh R.C., Hoshi R., Nomi J.S. et al. Neurovisceral integration in the executive control network: A resting state analysis // *Biol. Psychol.* 2020. V. 157. P. 107986.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2020.107986>
37. Murphy M.J.M., Deutch A.Y. Organization of afferents to the orbitofrontal cortex in the rat // *J. Comp. Neurol.* 2018. V. 526. № 9. P. 1498.
<https://doi.org/10.1002/cne.24424>
38. Neafsey E.J. Prefrontal cortical control of the autonomic nervous system: anatomical and physiological observations // *Progress in Br. Res.* 1990. V. 85. P. 147.
[https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)62679-5](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)62679-5)
39. Ongür D., Price J.L. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans // *Cereb. Cortex.* 2000. V. 10. № 3. P. 206.
<https://doi.org/10.1093/cercor/10.3.206>
40. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Fourth edition / G. Paxinos, C. Watson. Academic Press, 1998. 474 p.
41. Price J.L. Definition of the orbital cortex in relation to specific connections with limbic and visceral structures and other cortical regions // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007. V. 1121. P. 54.
<https://doi.org/10.1196/annals.1401.008>
42. Reep R.L., Corvin J.V., King V. Neuronal connections of orbital cortex in rats: topography of cortical and thalamic afferents // *Exp. Brain Res.* 1996. V. 111. № P. 315
<https://doi.org/10.1007/BF00227299>
43. Rempel-Clower N.L. Role of orbitofrontal cortex connections in emotion // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007. V. 1121. P. 72.
<https://doi.org/10.1196/annals.1401.026>
44. Roccaro-Waldmeyer D.M., Babalian A., Müller A., Celio M.R. Reduction in 50-kHz call-numbers and suppression of tickling-associated positive affective behaviour after lesioning of the lateral hypothalamic paraventricular nucleus in rats // *Behav. Brain. Res.* 2016. V. 298. Pt B. P. 167.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.11.004>
45. Rolls E.T., Cheng W., Feng J. The orbitofrontal cortex: reward, emotion and depression // *Brain. Comm.* 2020. V. 2 № 2. P. fcaa196.
<https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa196>
46. Rose J.E., Woolsey C.N. Structure and relations of limbic cortex and anterior thalamic nuclei in rabbit and cat // *J. Comp. Neurol.* 1948. V. 89. № 3. P. 279.
<https://doi.org/10.1002/cne.900890307>
47. Sachs E.Jr., Brendler S.J. Some effects of stimulation of the orbital surface of the frontal lobe in the dog and monkey // *Fed. Proc.* 1948. V. 7. Pt. 1 P. 107.
48. Schoenbaum G., Roesch M.R., Stalnaker T.A. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction // *Trends Neurosci.* V. 29. № 2. P. 116–24. 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.12.006>
49. Sklerov M., Dayan E., Browner N. Functional neuroimaging of the central autonomic network: recent developments and clinical implications // *Clin. Auton. Res.* 2019. V. 29. № 6. P. 555.
<https://doi.org/10.1007/s10286-018-0577-0>
50. Smith R., Thayer J.F., Khalsa S.S., Lane R.D. The hierarchical basis of neurovisceral integration // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017. V. 75. P. 274.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.02.003>
51. Thayer J.F., Hansen A.L., Saus-Rose E., Johnsen B.H. Heart rate variability, prefrontal neural function, and cognitive performance: the neurovisceral integration perspective on self-regulation, adaptation, and health // *Ann. Behav. Med.* 2009. V. 37. № 2. P. 141.
<https://doi.org/10.1007/s12160-009-9101-z>
52. Uylings H.B., Groenewegen H.J., Kolb B. Do rats have a prefrontal cortex? // *Behav. Brain. Res.* 2003. V. 146. № 1–2. P. 3.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028>
53. Uylings H.B., Sanz-Arigita E.J., de Vos K., Pool C.W. et al. 3-D cytoarchitectonic parcellation of human orbitofrontal cortex correlation with postmortem MRI // *Psychiatry Res.* 2010. V. 183. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.psychres.2010.04.012>
54. Van de Werd H.J., Rajkowska G., Evers P., Uylings H.B.M. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse // *Brain Structure and Function.* 2010. V. 214. № 4. P. 339.
<https://doi.org/10.1007/s00429-010-0247-z>
55. Van De Werd H.J., Uylings H.B. The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study // *Brain. Struct. Funct.* 2008. V. 212. № 5. P. 387.
<https://doi.org/10.1007/s00429-007-0164-y>
56. Wall P.D., Davis G.D. Three cerebral cortical systems affecting autonomic function // *J. Neurophysiol.* 1951. V. 14. № 6. P. 507.
<https://doi.org/10.1152/jn.1951.14.6.507>
57. Zhang S., Hu S., Hu J. et al. Barratt Impulsivity and neural regulation of physiological arousal // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 6. e0129139.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129139>

Orbitofrontal Cortex in the Central System of Autonomic Control

V. G. Aleksandrov^{1, *}, E. A. Gubarevich¹, T. N. Kokurina¹, G. I. Rybakova¹, and T. S. Tumanova^{1, 2}

¹*Pavlov Institute of Physiology, RAS, St. Petersburg, 199034 Russia*

²*The Herzen State Pedagogical University of Russia, St. Petersburg, 191186 Russia*

**e-mail: aleksandrovv@infran.ru*

Abstract—Elucidation of the mechanisms that ensure the participation of various areas of the cerebral cortex in the implementation of the central control of autonomic functions is one of the fundamental problems of neurophysiology and the physiology of visceral systems. The functions of the orbitofrontal cortex are poorly studied in the context of autonomic control. The main goal of this review is to analyze data of neuromorphological and neurophysiological studies that indicate the interaction of this cortical area with the structures of the central autonomic network, as well as with other cortical areas involved in the control of autonomic functions.

Keywords: orbitofrontal cortex, prefrontal cortex, autonomic control, autonomic functions, central autonomic network, visceral systems, neurovisceral integration

ИНТЕРОЦЕПТОРЫ КИШКИ В НЕЙРОИММУННЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

© 2022 г. О. Н. Платонова^{а, *}, Е. Ю. Быстрова^а, К. А. Дворникова^а, А. Д. Ноздрачев^{а, б}

^аЛаборатория interoцепции, ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН,
Санкт-Петербург, 199034 Россия

^бСанкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: olgaplatonova1991@mail.ru

Поступила в редакцию 16.02.2022 г.

После доработки 28.02.2022 г.

Принята к публикации 03.03.2022 г.

Интероцепторы, осуществляющие афферентацию, наиболее широко, четко, выразительно представлены в энтеральной части метасимпатической нервной системы (МНС) и обнаруживаются, как правило, несколькими слоями. В обзоре будут преимущественно рассмотрены современные данные, касающиеся нормальных и патофизиологических процессов, опосредованных именно нейроиммунными взаимодействиями. Управление процессом осуществляется сигнальными молекулами, экспрессирующимися в нервном и иммунном компонентах. Механизмы модуляции ответов осуществляются благодаря активации interoцепторов, а также иммунных клеток, определяющих пути соответствующего ответа. Обзор демонстрирует последние достижения в понимании того, как иммунные клетки и внутренние первичные афферентные нейроны (IPAN) используют медиаторы, такие как ацетилхолин (ACh), катехоламин (CCh), серотонин (5-HT), вещество P (SP), связанный с геном кальцитонина пептид (CGRP), вазоактивный кишечный пептид (VIP) и др.

Ключевые слова: афференты, воспаление, interoцепторы, метасимпатическая нервная система, нейроиммунные взаимодействия, энтеральная нервная система (ЭНС), кишка

DOI: 10.31857/S0301179822030080

ВВЕДЕНИЕ

Термин “interoцепция” был использован Чарльзом Шеррингтоном еще в начале двадцатого столетия (1906 г.) и определялся как комплекс рецепторов слизистой оболочки пищеварительного тракта, адаптированных к восприятию химических стимулов. К настоящему времени значение термина существенно расширилось и включает совокупность рецепторов всех внутренних органов, кровеносных сосудов, скелетных мышц и систем организма в восходящем ряду позвоночных [13].

Предложенная создателем учения об interoцепции академиком В.Н. Черниговским и широко используемая ныне классификация основана на модальности предъявляемых раздражителей. Во многом это связано с дизайном физиологических экспериментов, использовавшихся в минувшем столетии. В общем виде такие исследования предполагали предъявление некоторых стимулов (механических, термических, химических, осмотических и др.) с последующей регистрацией электрической активности и интерпретацией ре-

зультатов исследований. Между тем, развитие методов молекулярной биологии и микроскопии позволило получить еще и целый ряд новых сведений о топографии, пластичности, структуре и особенностях работы периферических сенсорных образований в комплексе их взаимодействий [5, 15].

Анатомическая структура кишки, как известно, представлена несколькими слоями (рис. 1). Ее слизистая оболочка содержит эпителиальные клетки (intestinal epithelial cell, IEC), имеющие морфологические и функциональные различия. Выделяют 6 видов эпителиоцитов: каемчатые (столбчатые), бокаловидные, энтероэндокринные (enteroendocrine cells, EEC), клетки с ацидофильными гранулами (клетки Панета), бескаемчатые (малодифференцированные) и микроскладчатые (М-клетки).

В восходящем ряду позвоночных межмышечное (Ауэрбахово), или еще называемое сейчас миоэнтеральным нервным сплетением (longitudinal muscle-myenteric plexus, LMMMP), располагающееся между кольцевым и продольным слоями гладких мышц, а также подслизистое (Мейсснерово)

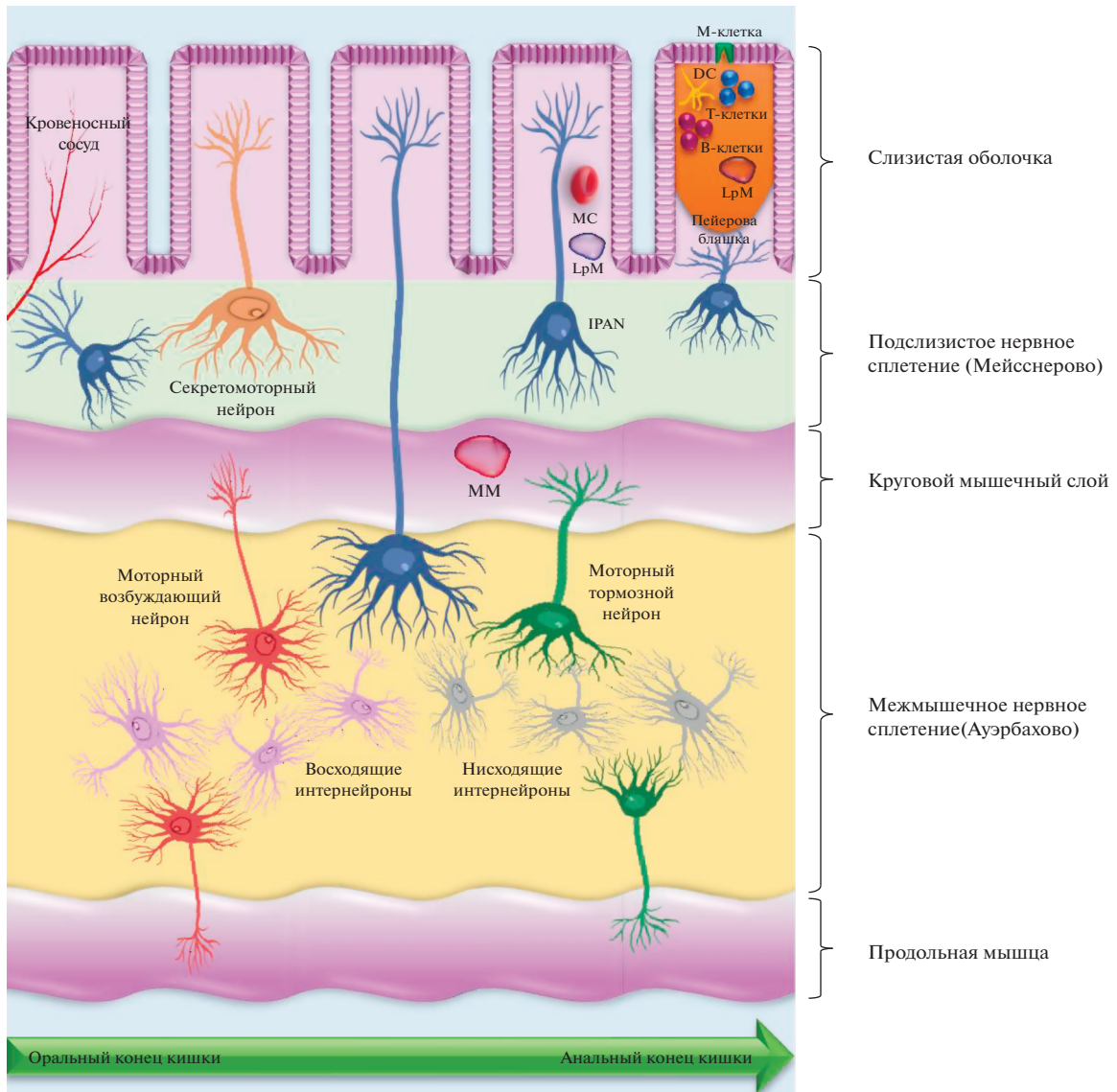


Рис. 1. Упрощенная схема (не показаны внешние ветви парасимпатического и симпатического отдела АНС) строения участка кишки, продольное сечение. Подслизистое и межмышечное сплетение обеспечивают иннервацию на всей глубине кишки. Иммунные клетки представлены как в мышечных слоях (ММ – мышечные макрофаги), так и в слизистой оболочке и подслизистой основе (LpM – макрофаги собственной пластинки, MC – Тучные клетки, DC – дендритные клетки), особенно в Пейеровых бляшках. Тела внутренних первичных афферентных нейронов (IPAN) находятся в обоих сплетениях, а их отростки имеют широкую сеть, связывающие все отображенные на схеме компоненты.

сплетение (submucosal plexus, SMP) [4, 14], содержат большое количество афферентных волокон. В них обнаруживаются медиаторы, выделяемые специализированными клетками, выстилающими просвет кишечного тракта. Помимо того, через слизистую оболочку поступает еще информация о химическом составе продуктов питания, патогенная и собственная микробиота, лекарственные препараты и пр. В зависимости от агента, соответственно, высвобождается широкий спектр пептидов и медиаторов, вырабатываемых не только

эпителиальными энтероэндокринными и иммунными клетками, но и собственными кишечными (энтеральными) метасимпатическими нейронами [21, 41, 76].

Иммунные клетки, включая макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки и лимфоциты, также модулируют активность сенсорных нейронов, хотя механизм такого перекрестного общения между иммунной и нервной системами пока не совсем понятен. Однако все чаще признается, что между

клетками нервной и иммунной систем существует сильное взаимодействие [38, 76].

ИННЕРВАЦИЯ ЭНТЕРАЛЬНОГО КАНАЛА

Иннервация кишки осуществляется симпатической, парасимпатической и метасимпатической частями-отделами автономной нервной системы (АНС). Во многих публикациях и обсуждениях их чаще обозначают “системами”: симпатическая нервная система (СНС), парасимпатическая нервная система (ПНС), соответственно и метасимпатическая нервная система (МНС). Помимо того, в практике для удобства понимания или манипуляции часто выделяют собственно кишечный отдел – “энтеральную нервную систему” (ЭНС), которая функционирует подобно произвольному “мозгу в кишке”, обеспечивающей “гомеостатические паттерны” ее кишечного поведения – перистальтику, секрецию, всасывание, выделение, кровоток и т.д. [40, 57]. Важно отметить, что все отделы АНС выполняют одновременно афферентную и эфферентную функции. При этом мотонейроны АНС довольно однородны и могут быть на основе постганглионарных нейротрансмиттеров (neurotransmitters, NTs) подразделены на симпатические и парасимпатические. В сенсорике же существует своя значительная сенсорная неоднородность [13, 52, 58].

Кишечная нервная система в основном представлена внутренними первичными сенсорными афферентными и эфферентными (так называемыми моторными) компонентами, сосредоточенными преимущественно в интрамуральных ганглионарных сплетениях МНС. Иннервируется эта система также еще и терминалями от внешних первичных афферентов, симпатических и парасимпатических нервов [15, 58].

Большинство афферентных волокон являются немиелинизированными волокнами блуждающего нерва (vagus nerve, VN). В тонкой кишке и ее брыжейке находится еще значительное число афферентов симпатического чревного сплетения, в большей степени представленных высокоскоростными толстыми миелинизированными волокнами. Толстая же кишка и органы таза снабжаются преимущественно волокнами каудального (нижнего) подчревного сплетения, где число толстых и тонких миелинизированных волокон примерно одинаково [5, 7, 14].

В кишке стимуляция симпатических волокон вызывает преимущественно тормозные, парасимпатических – возбуждающие эффекты. В верхнем отделе канала (пищевод и желудок) основные внешние сенсорные волокна отходят от

блуждающего нерва, тогда как в нижнем (толстой кишке) их влияние практически полностью исчезает, замещаясь спинномозговыми афферентами. Клеточные тела последних лежат в ганглиях дорсальных корешков (dorsal root ganglion, DRG) [15].

Нейрон-опосредованные ответы кишки запускаются активацией сенсорных афферентов на стимулы (в том числе воспаление) и сигналы передаются к клеткам-мишеням посредством рефлексов, включая местные рефлексы стенки кишки (“собственные рефлексы” по В.Н. Черниговскому) [5]. Что же касается экстраспинальных рефлексов, возникающих в стенке кишки и синаптически переключающихся в превертебральных симпатических ганглиях без вовлечения центральной нервной системы, то В.Н. Черниговский назвал их “сопряженными местными рефлексами” [4, 5].

Следует заметить, что в афферентных нейронах блуждающего нерва существуют рецепторы интерлейкина-1 (Interleukin-1, IL-1) и простагландинов (prostaglandin, PG), фактор некроза опухоли-альфа (tumor necrosis factor, TNF- α), провоспалительные пептиды семейства тахикининов, а также продукты тучных клеток. ЭНС обрабатывает и ряд ощущений, таких как химический состав содержимого и растяжение [59, 70–72]. Однако, влияя на врожденный и адаптивный иммунитет, она активно способствует также использованию защитных механизмов. Таким образом, ЭНС может участвовать в патогенезе воспалительных заболеваний кишки (Inflammatory bowel disease, IBD), вызванных различными инфекционными агентами [41, 46].

Для запуска нервного ответа в качестве промежуточных звеньев ЭНС использует эпителиальные, энтероэндокринные, иммунные и гладкомышечные клетки, а также кишечную глию и интерстициальные клетки Кахаля, где нейрональный контроль опосредуется холинергическими, вазоактивными кишечными пептидами и сигнальными путями оксида азота. Между тем, в последние десятилетия появляются данные об экспрессии рецепторов врожденного иммунитета собственными кишечными нейронами у мыши, крысы и человека, что свидетельствует о наличии более сложной коммуникации между этими структурами [13, 16, 21, 28, 57].

Сенсорные нейроны, называемые еще внутренними первичными афферентными нейронами (intrinsic primary afferent neuron, IPAN) – относительно большие мультиаксональные нейроны, которые располагаются исключительно в интрамуральных ганглиях межмышечного и под-

слизистого сплетений, обладают хемосенсорными и механосенсорными свойствами и имеют морфологию клеток Догеля II-го типа (рис. 1). Для регуляции множества пищеварительных и желудочно-кишечных функций они образуют полные рефлекторные цепи с кишечными интернейронами и мотонейронами [33, 45, 76].

В отличие от внешних афферентов, IPAN не передают висцеральные ощущения от кишки мозгу. Кишка получает внешнюю иннервацию за счет сенсорных афферентов из ганглиев DRG, которые опосредуют преимущественно висцеральную боль, давление и нейрогенное воспаление. Внешняя иннервация также осуществляется сенсорными афферентами яремных ганглиев, обеспечивая чувство насыщения, тошноту, гомеостазис кишки и воспалительные рефлекторные цепи. Следовательно, сенсорная информация из кишки по-разному обрабатывается разными типами нейронов, что приводит к различным желудочно-кишечным ощущениям и функциональным результатам [39, 41, 45].

Чувствительные окончания блуждающего нерва активируются провоспалительными цитокинами TNF- α , IL-1 β , гистамином и простагландинами. В ответ возбуждающие нейроны ядра одиночного пути активируют вагусные эффекторные окончания, которые выделяют ацетилхолин. Последний связывается с альфа-никотиновыми рецепторами на макрофагах и блокирует производство провоспалительных цитокинов. Некоторые авторы считают чрезмерную продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-1 β , причиной нейротоксичности, вследствие которой происходит дегенерация аксонов и гибель нейроцитов [2, 8, 15].

В дополнение к внутренним сенсорным нейронам, которые также могут функционировать как интернейроны, существуют одноаксональные восходящие и нисходящие интернейроны кишки. Их различные нейрохимические классы могут находиться в разных участках органа. ACh обычно является первичным передатчиком интернейронов, но каждый подтип использует различные ко-трансммиттеры или нейромодуляторы, такие как серотонин, аденозинтрифосфат, тахикинин [13, 32, 33].

В миэнтеральном сплетении возбуждающие и тормозные мотонейроны иннервируют гладкие мышцы, вызывая их сокращение или расслабление. Первые, как правило, проецируются орально; их основной передатчик ACh. В то же время вторые проецируются каудально (анально) и используют различные трансмиттеры, включая ок-

сид азота (NO), вазоактивный кишечный пептид (vasoactive intestinal polypeptide, VIP) и полипептид, активирующий аденилатциклазу гипофиза (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, PACAP). В подслизистом же сплетении секретomotorные и сосудорасширяющие нейроны иннервируют преимущественно слизистую оболочку и подслизистую сосудистую сеть. Главными нейротрансмиттерами здесь служат ACh и VIP [8, 34, 58, 65].

При воздействии инфекционных агентов активация кишечных нейронов возможна непосредственно напрямую через афферентные окончания. Показано, например, что воздействие липополисахарида (lipopolysaccharide, LPS) на препараты сплетения и первичные кишечные культуры приводит к нейронной модуляции воспалительного ответа, что, в свою очередь, подтверждается усилением продукции TNF- α . Мишенями определенных токсинов могут являться первичные сенсорные клетки слизистой оболочки, стимулирующие секрецию. В частности, токсин *A Clostridium difficile* увеличивает активность нейронов подслизистой оболочки AN- и S-типа. Воздействие *Lactobacillus rhamosus* и *Bacteroides fragilis* на эпителий вызывает реакцию первичных афферентов в течение нескольких секунд и способствует повышению возбудимости в течение нескольких минут. Короткая латентность ортодромных потенциалов действия (ПД) позволила предположить, что IPAN ответы являются прямыми сенсорными ПД, опосредованными нервными процессами, распространяющимися в эпителии слизистой оболочки [40, 44].

Сенсорные нейроны также получают синаптические входы от локальных цепей кишечных афферентов, поскольку у них регистрировались вторичные возбуждающие постсинаптические потенциалы. Помимо того, было обнаружено, что капсульный полисахарид A из *B. fragilis* является медиатором активации сенсорных нейрональных ответов. Эти данные свидетельствуют о том, что опосредованное *L. reuteri* усиление возбудимости сенсорных нейронов может снизить перистальтику толстой кишки, и это снижение мышечного напряжения, вероятно, способствует пробиотическому облегчению висцеральной боли [44].

Появляющиеся данные поддерживают идею о том, что нормальная внутренняя и внешняя нейротрансмиссия в кишке частично регулируется метаболитами бактериального происхождения. Нарушения функции нервного надзора могут быть связаны с изменением метаболической активности кишечных микроорганизмов. В этих

случаях клинические симптомы могут быть облегчены путем изменения микробных сообществ с помощью пребиотиков, пробиотиков и антибиотиков [57]. Распознавание указанных бактериальных агентов и, вероятно, прочих лигандов врожденного иммунитета, требует наличия на телах нейронов и волокнах специализированных рецепторов.

МЕДИАТОРЫ НЕЙРОИММУННОЙ ПЕРЕДАЧИ

Сигнальные молекулы и их метаболиты, передающие сигналы через еще более широкий спектр рецепторов различных типов нервных волокон, в том числе и в кишке, характеризуются большим разнообразием. К ним относят нейротрансмиттеры (ACh, норэпинефрин (norepinephrine, NE), нейропептид Y (neuropeptide Y, NPY), субстанция P (substance P, SP), VIP и пр.), аденокортикотропный гормон (АКТГ), рилизинг-гормон кортикотропина (corticotropin-releasing hormone, CRH), глюкокортикоиды (glucocorticosteroid, GC), свободные радикалы, цитокины и др., которые способны активировать иммунные клетки через специфические рецепторы [2, 8, 9, 11, 22, 42, 53].

Количество экспрессируемых рецепторов неодинаково, зависит от вида и локализации конкретных объектов, а также от микросреды. Хотя иммунные и эпителиальные клетки считаются каноническими организаторами сложного равновесия, ЭНС играет существенную роль в управлении ответом на антимикробный белок (antimicrobial peptide, AMP). Так, например, нейроны кишки продуцируют плейотропный цитокин IL-18, причем делеция IL-18 только из энтеральных нейронов, но не из иммунных или эпителиальных клеток, приводит к восприимчивости мышей к *Salmonella typhimurium*.

РНК-секвенирование показало, что продуцируемый нейронами IL-18 особенно необходим для гомеостатической продукции AMP бокаловидными клетками. Нейрон-специфичная передача сигналов IL-18 контролирует кишечный иммунитет и влияет на барьерные функции слизистой оболочки. При этом IL-18⁺ нейроны являются нитригергическими (IL-18⁺ nNOS⁺), в то время как холинергические IL-18⁺ не обнаружены [42, 69].

Продукция цитокинов, определяемых как сигнальные молекулы в иммунной системе собственными нейронами ЭНС, подтверждает сложность двунаправленного взаимодействия нервной и иммунной систем. Наиболее важную роль в

регуляции воспаления и иммунного гомеостаза кишечника играют нейротрансмиттеры [1, 8, 19].

Нейротрансмиттеры или нейропептиды (neuropeptides, NP) – семейство элементов, которые выполняют локальную нейроэндокринную и сигнальную функцию. Активация сенсорных нейронов вызывает кальций-зависимое высвобождение из нервных окончаний плотных ядерных везикул, содержащих нейропептиды. В некоторых случаях более крупные пептиды-предшественники процессируются в несколько нейропептидов, которые оказывают влияние через один или несколько рецепторов, экспрессируемых нейронами, иммунными клетками и стромальными клетками кишки. Количественные изменения в метаболизме NT дают возможность лучше понять нейроиммунно-опосредованное воспаление. Так, например, метаболизм нейротрансмиттеров нарушается колитом, вследствие чего в сыворотке крови повышаются уровни нейротрансмиттеров, а в содержимом кишки накапливается избыток аминокислотных медиаторов. В ответ на воспаление происходит сдвиг аминокислот и холинов, наиболее выраженный в отношении метаболизма триптофана и фенилаланина [40, 44, 69].

Ацетилхолин (ACh) – это первичный парасимпатический нейромедиатор. Он имеет множество рецепторов, которые бывают двух типов: мускариновые (mAChR), состоящие из 5 подтипов (M1–M5), и никотиновые (nAChR) из гомомерных или гетеромерных комбинаций 5 субъединиц. Никотиновые рецепторы напрямую связаны с ионными каналами, тогда как мускариновые представляют собой рецепторы, связанные с G-белком, которые влияют на передачу сигналов в клетке [30, 77].

Общепризнано, что ЭНС является регулятором иммунной функции, которая потенциально используется для достижения иммуносупрессии при IBD. Ее активация приводит к высвобождению ACh из эфферентных холинергических волокон вагуса и способна опосредовать про- и противовоспалительную активность. Возбуждение рецепторов, как показали эксперименты, вызывает десенсибилизацию за счет модуляции внутриклеточного кальция. Стимуляция уменьшает местное и системное воспаление на моделях эндотоксемии, артрита и колита [11, 25, 77].

Нервная и иммунная системы неразрывно связаны на всех этапах развития организма. Нейроиммунные взаимодействия прежде всего происходят посредством двунаправленного обмена информацией, опосредованного молекулами, в ранних исследованиях ассоциированными толь-

ко с нервной, или эндокринной, или иммунной системами. Указанные молекулы представляют собой нейропептиды, нейротрансмиттеры, опиоидные пептиды, глюкокортикоиды, свободные радикалы и цитокины. Многие нейротрансмиттеры и их рецепторы, первоначально описанные в ЦНС, экспрессируются иммунными клетками и обладают рядом иммуномодулирующих свойств. Напротив, цитокины, первоначально представленные как первичные сигнальные молекулы между иммунокомпетентными клетками во время иммунных ответов, теперь считаются полноценными участниками поддержания функций в ЦНС и в нервном развитии. Они также неразрывно вовлечены в нейродегенеративные процессы через СНС, ПНС, МНС [7, 15].

Подобно возможностям иммунных клеток, сенсорные нейроны также способны идентифицировать патогенные агенты. Кинетика ответа нейроцитов на порядки быстрее, чем у иммунных клеток (обычно миллисекунды по сравнению с часами). Следовательно, ранняя реакция нервной системы координирует защитные механизмы хозяина для устранения угроз и опосредования процессов восстановления органов и тканей [12].

Это позволило сформулировать принципиально новые представления о механизмах участия интероцепторов в модуляции реакций на внешние вещества антигенной природы. В частности, было предложено новое самостоятельное понятие “Полимодалная интероцептивная сенсорная система” (ПИСС), представляющая собой многофакторную систему сенсорных взаимодействий висцеральных органов с ЦНС. Согласно представлениям, стимулированные интероцепторы (в частности, ноцицепторы) в ПИСС приводят к активации вне- и внутриклеточной мембранной рецепции иннервируемых тканей при участии волокон симпатической, парасимпатической и метасимпатической частей АНС, обуславливая развитие висцеральной гиперчувствительности [4].

Исследование экспрессии мРНК гетеромерного nAChR и субъединицы рецептора в ЭНС новорожденных крыс в тонкой и толстой кишке выявило экспрессию мРНК $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$ и $\beta 4$ в их нервных сплетениях. В подслизистом сплетении экспрессия $\alpha 3$, $\alpha 5$ и $\beta 4$ была обнаружена и в некоторых ганглиях. Субъединицы $\alpha 4$, $\alpha 6$ и $\beta 3$ не были найдены в ЭНС, но транскрипты $\alpha 2$ были выявлены лишь в некоторых областях тонкой кишки. Между тем, сигнал не был связан с ганглиозными клетками. Эти сведения подтверждают наличие гетеромерных nAChR в ЭНС, подобных тем, ко-

торые обнаруживаются в периферической нервной системе. При этом большинство из них состоит из $\alpha 3$ ($\alpha 5$) $\beta 4$ и нескольких $\alpha 3\beta 2$ nAChR. Кроме того, могут присутствовать гомомерные $\alpha 7$ nAChR [34].

У мышей с эндотоксемией, дефицитных по $\alpha 7$ -никотиновому рецептору AX ($\alpha 7$ -nAChR), были повышены системные уровни TNF- α , IL-1 β и IL-6, и эти мыши не могли подавлять уровни TNF- α при стимуляции блуждающего нерва. В частности, экспрессия $\alpha 7$ -nAChR на макрофагах была необходима для наблюдаемого ACh-опосредованного подавления TNF- α . Стимуляция $\alpha 7$ -субъединицы никотиновых ацетилхолиновых рецепторов на макрофагах в значительной степени ингибирует продукцию TNF- α , IL-1 β , HMGB1 (high-mobility group protein) и других цитокинов, путем передачи клеточного сигнала, ингибирующего ядерную активность NF- κ B (nuclear factor kappa B) и активирующего фактор транскрипции STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) посредством фосфорилирования нерцепторной тирозинкиназы Janus kinase 2 (JAK2) [32, 37, 77].

Рецептор $\alpha 7$ nAChR обнаружен в головном мозге и в иммунных клетках, таких как дендритные T-клетки. Для иммунных клеток существуют различные механизмы, включая классический поток ионов, модуляцию цАМФ или ингибирование митоген-активируемого протеина MAP-киназы p38, что приводит к ингибированию высвобождения провоспалительных цитокинов типа фактора некроза опухоли TNF- α [6, 25].

Нервные сигналы, воздействуя на дендритные клетки (Dendritic cells, DC) и лимфоциты через сенсорные волокна блуждающего нерва, могут ослабить воспалительную реакцию. Лимфоциты периферической крови человека также экспрессируют различные холинергические продукты, включая ACh, холинацетилтрансферазу (ChAT), ацетилхолинэстеразу (acetylcholinesterase, AChE), везикулярный переносчик ацетилхолина (vesicular acetylcholine transporter, VAChT), а также мускариновые холинергические рецепторы M2–M5. T-клетки секретируют ACh в ответ на активацию своих β -адренергических рецепторов (beta-adrenergic receptors, ADR- β) [25, 32, 77].

На моделях колита показано, что селективные агонисты $\alpha 7$ -nAChR снижают инфильтрацию иммунных клеток и тяжесть заболевания, однако при этом они также способны ухудшать его течение. T- и B-лимфоциты продуцируют ацетилхолин и, как следствие, активно участвуют в холинергической передаче и противовоспалительном сигнальном пути. Эти клетки также характеризу-

ются способностью к продукции ChAT, которая является ферментом, ограничивающим скорость синтеза ACh X1 [25].

ДС и перитонеальные макрофаги экспрессируют mAChR (M1–M5) и nAChR ($\alpha 2, \alpha 5, \alpha 6, \alpha 7, \alpha 10, \beta 2$). Т- и В-клетки также обладают рецепторами к ACh (nAChR $\alpha 2, \alpha 5, \alpha 9, \alpha 10, \beta 1, \beta 2, \beta 4$ и M1, M3, M4, M5 mAChR для Т-клеток; $\alpha 4, \alpha 7, \beta 2$ nAChR и M2 mAChR для В-клеток). В кишке ChAT+ Т-клетки связывают с производством антимикробных пептидов и микробным разнообразием, хотя роль ACh + Т-клеток в колите не выяснена. Предполагается, что разные типы иммунных клеток могут быть мишенью для ACh [25, 31].

Катехоламины (catecholamines, CCh) — это класс нейроактивных молекул симпатических окончаний. Они действуют как гормоны и нейротрансмиттеры СНС, однако становится все более очевидным, что также способны выступать в качестве иммуномодуляторов врожденных и адаптивных иммунных клеток, включая макрофаги. Те в свою очередь могут реагировать, а также вырабатывать собственные CCh. Адренорецепторы (ADR) представлены $\alpha 1, \alpha 2$ и $\beta 1, \beta 2$ рецепторами [8, 22, 50, 72, 77].

Симпатический отдел АНС иннервирует все лимфоидные органы, и именно катехоламины в пресинаптических окончаниях модулируют иммунные клетки в первичных и вторичных лимфоидных органах, вызывая иммуномодуляцию. Активность этих NT прекращается за счет обратного захвата нервными окончаниями, растворения во внеклеточных жидкостях, поглощения и метаболической трансформации [8, 32, 52].

Катехоламины подавляют продукцию провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, TNF- α , INF γ , и стимулируют выработку противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10, IL-1RA и трансформирующий ростовой фактор-бета (transforming growth factor beta, TGF- β). Таким образом, они способны вызывать избирательное подавление клеточного иммунитета (ответы Th1) и повышать гуморальный иммунитет (ответы Th2). В модуляции иммунных ответов могут также участвовать местный катехоламинергический синтез и передача сигналов [8, 52, 77].

Недавние исследования показывают, что Т-клетки могут также синтезировать и выделять катехоламины, которые затем способны регулировать функцию Т-клеток. Кроме того, макрофаги и нейтрофилы при стимуляции способны генерировать и высвобождать катехоламины *de novo*, которые затем аутокринно-паракрин-

ным образом, благодаря участию адренорецепторов, регулируют высвобождение медиатора из этих фагоцитов. Более того, регуляция активности ферментов, вырабатывающих катехоламины, а также ферментов разложения, таких как высвобождение провоспалительных медиаторов, явно меняет характер воспалительной реакции фагоцитов [32, 64].

Вещество Р (SP), член семейства нейропептидов тахикинина, экспрессируется нейронами ЭНС и способен стимулировать сократимость кишки и снижать кровяное давление. Ген *tachykinin precursor-1 (Tac1)* кодирует препротахикинин-1, который может быть далее процессирован в четыре альтернативно сплайсированных нейропептида тахикинина: SP, нейрокинин А, нейрокинин К и нейрокинин гамма. Их нейрокининовые рецепторы NK1R включают NK2R и NK3R (кодируемые *Tacr1, Tacr2* и *Tacr3*). Последние представляют собой рецепторы, связанные с G-белком, экспрессируемые нейрональными, а также другими типами клеток. В кишке основными источниками SP являются нейроны метасимпатических узлов и сплетений [6, 44, 71].

Этот предполагаемый нейротрансмиттер для медленного синаптического возбуждения в ЭНС и для аксональных рефлексов, опосредованных афферентами спинного мозга, приводит к высвобождению гистамина, протеаз тучных клеток и цитокинов. В случае возбуждающего действия токсина-А на нервные элементы высвобождается вещество Р, которое дегранулирует тучные клетки. В этом случае воздействие токсина-А деполяризует мембранный потенциал и повышает возбудимость нейроцитов [71].

Иммунореактивность тахикинина наблюдается в телах нейронов межмышечного и подслизистого сплетений, а также в отростках, иннервирующих мышцы, подслизистые артерии и слизистую оболочку. NK1R экспрессируется кишечными нейронами, интерстициальными клетками Кахалы и эпителием, NK2R — мышечными и эпителиальными клетками, причем в подвздошной кишке в большей степени по сравнению с двенадцатиперстной и толстой. Наконец, NK3R преимущественно экспрессируется энтеральными нейронами и опосредует межнейронную передачу. NK1R и NK2R локализованы в Т-лимфоцитах пластинки, макрофагах, тучных клетках и их экспрессия увеличивается во время воспаления. SP индуцирует секрецию иммунными клетками провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) через NF- κ B-зависимый путь. Проведенные исследования указывают на пагубную

роль активации SP и NK1R при колите. Мыши генотипа *Tac1*^{-/-}, получавшие антагонист NK1R, продемонстрировали снижение потери веса, активности миелоидной пероксидазы, гистопатологических показателей и продукции провоспалительных цитокинов по сравнению с мышами дикого типа. При этом, согласно данным другого исследования, стимуляция NK1R в фибробластах приводит к увеличению синтеза коллагена и фиброгенезу, и способствуют выживанию колоноцитов посредством анти-апоптотических АКТ сигнальных механизмов. Следовательно, хотя антагонисты NK1R могут демонстрировать потенциальные противовоспалительные преимущества при IBD, они могут также ухудшать течение реакции [44].

Следует еще отметить, что провоспалительная активность вещества P связана с усилением продукции IL-1, TNF- α и IL-6 моноцитами. Вещество P может регулировать выработку цитокинов DC, что впоследствии влияет на поляризацию Т-клеток и опосредованную продукцию эффекторных цитокинов [52].

Кальцитонин ген-родственный пептид (Calcitonin Gene-Related Peptide, **CGRP**) представляет собой сенсорный нейропептид с сильной и продолжительной сосудорасширяющей активностью, которая проявляется в 10–1000 раз сильнее, чем у других классических вазодилаторов. Мыши, у которых отсутствует рецептор CGRP, экспрессируемый соматосенсорными нейронами, спонтанно гипертоничны, хотя источник CGRP, который опосредует расслабление сосудов, остается неизвестным [38, 44, 52].

Существуют две изоформы данного нейропептида – CGRP α и CGRP β , которые у человека отличаются всего тремя аминокислотами и кодируются генами *Calca* и *CalcB* соответственно. Иммунореактивность CGRP обнаружена во всех слоях кишки и сосредоточена вокруг подслизистых кровеносных сосудов. CGRP в значительной степени экспрессируется вместе с SP; однако, в отличие от волокон SP, волокна CGRP иннервируют Пейеровы бляшки. Кишечные нейроны вносят вклад в общую экспрессию CGRP, при этом указанные нейроны преимущественно экспрессируют изоформу CGRP β [44, 47–49].

CGRP демонстрирует нейроиммунные двусторонние взаимодействия, в которых многие врожденные и адаптивные иммунные клетки изменяют свою функцию в ответ на CGRP, в то время как некоторые из них (например, моноциты, Т-клетки, В-клетки) сами высвобождают CGRP

или регулируют его экспрессию сенсорными нейронами [67].

Мыши с двойным нокаутом CGRP/SP в равной степени защищены от колита по сравнению с мышами *SP*^{-/-}, что позволяет предположить, что CGRP не обеспечивает дополнительной защиты, если повреждающие ткани эффекты SP отсутствуют. CGRP может оказывать направленную хемотаксическую активность на незрелые DC *in vitro*, тогда как норэпинефрин усиливает подвижность DC, помогая в их отборе и приобретении антигена в тканях [44]. Механизмы регуляции CGRP воспаления желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) практически не изучены.

Вазоактивный кишечный пептид (VIP) впервые был идентифицирован в кишке свиней. Он является основным тормозным нейромедиатором, высвобождаемым секретомоторными нейронами. Рецепторы к соматостатину (somatostatin, SST1 и SST2) опосредуют неадренергические ингибирующие постсинаптические потенциалы в холинергических VIP-секретомоторных нейронах. Пептид действует на гладкие мышцы и эпителиальные клетки, влияя на моторику, абсорбцию жидкости, секрецию электролитов и слизи. Его иммунологические эффекты опосредуются работой основных рецепторов, связанных с G-белком, а именно VPAC1 и VPAC2 (кодируемых генами *Vipr1* и *Vipr2* соответственно). VIP-рецепторы экспрессируются на многих специализированных иммунных клетках (Т-клетках, макрофагах, DC, нейтрофилах и врожденных лимфоидных клетках). Кроме того, следует отметить, что VIP-иммунопозитивные нервные волокна обнаружены во всех слоях кишки [8, 44, 65].

VIP играет решающую роль в развитии и поддержании целостности эпителиального барьера кишки и способствует восстановлению эпителия во время колита. Мыши с дефицитом VIP демонстрируют пониженное количество бокаловидных клеток и сниженную экспрессию секреторируемых факторов бокаловидных клеток – муцина 2 и фактора трилистника-3 (trefoil factor 3, TFF3). Эти изменения связаны с экспрессией гомеобокса 2 каудального типа (*Cdx2*), регулятора функции и гомеостазиса органа [73].

На модели IBD у собак показано, что IBD ассоциировано с изменениями плотности VIP-положительных нервных волокон подслизистого сплетения. Это свидетельствует о том, что VIP участвует в развитии патологического процесса [56].

VIP, вырабатываемый Th2, является одним из мощных ингибиторов Th1 вследствие стимуляции выработки противовоспалительных цитоки-

нов. Короткий период полувыведения системного VIP и его вмешательство в деятельность сердечно-сосудистой и желудочно-кишечной систем ограничивают его практическое применение. На модели аутоиммунной периферической полинейропатии у мышей показано, что DC, экспрессирующие VIP, трансдуцированные лентивирусными векторами (LV-VIP-DC), оказывают устойчивый терапевтический эффект, повышают выживаемость [8, 55, 75].

VPAC1 и VPAC2, имеющие различное сродство к VIP, экспрессируются на разных уровнях: VPAC1 на покоящихся Т-клетках и макрофагах, VPAC2 на Т-клетках. При этом конститутивно низкая экспрессия VPAC2 повышается при активации, сопровождаясь снижением экспрессии VPAC1 [30, 44].

Высвобождая регуляторные медиаторы трансформирующего фактора роста TGF- β и IL-10, клетки Treg или Vreg подавляют ответ других клеток, которые удерживают иммунные ответы в надлежащем диапазоне, во избежание повреждения тканей. VIP обеспечивает осуществление иммунных регуляторных функций, например, таких как повышение иммунной толерантности за счет рекрутирования. Недостаточные уровни VIP в микросреде ускоряют распад мРНК IL-10, вызывая дисфункцию Vreg [61].

В активированных макрофагах VIP ингибирует продукцию TNF- α , IL-12 и NO, прежде всего через конститутивный VPAC1 и, в меньшей степени, через индуцибельный VPAC2. Связывание VIP с VPAC1 индуцирует цАМФ-зависимый и цАМФ-независимый пути, по которым регулируется продукция цитокинов и NO на уровне транскрипции. VIP подавляет экспрессию TNF- α , IL-12 и индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) за счет уменьшения связывания фактора транскрипции NF- κ B [9].

При TNBS-индуцированном колите, содержание VIP в нервных волокнах снижается в подслизистой и увеличивается в слизистой оболочке. Он может играть защитную роль, включая увеличение цитокинов (IL-10, IL-4, IL-13), снижение провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12), а также способствует усилению вызванного бактериями разрушения плотных контактов эпителия кишки. При введении высоких доз препарата останавливает защитные реакции. VIP- $^{-/-}$ мыши оказались устойчивыми к колиту, демонстрируя потерю веса, низкие уровни провоспалительных цитокинов и отсутствие разницы в гистопатологических показателях с мышами дикого типа [44, 66].

VIP- $^{-/-}$ мыши с DSS-индуцированным колитом демонстрируют снижение признаков воспаления и повреждения слизистой оболочки вместе со сниженной или отсутствующей экспрессией мРНК провоспалительных цитокинов в толстой кишке. Мыши VPAC1- $^{-/-}$ оказались более устойчивы к DSS-индуцированному колиту, чем мыши VPAC2- $^{-/-}$. К тому же у последних наблюдалось стремительное развитие колита, сопряженное с большей потерей веса, продукцией провоспалительных цитокинов и более неблагоприятной гистопатологической картиной по сравнению с диким типом [44, 73]. Результаты этих исследований подчеркивают необходимость использования рецептор-специфических агонистов или антагонистов для нацеливания на различные пути передачи сигналов нейропептидов во время воспаления ЖКТ.

Серотонин (5-НТ) представляет собой моноамин и является ключевым посредником, обеспечивающим выполнение ряда центральных и периферических функций в организме. Он опосредует многочисленные процессы, например, поддержание тонуса сосудов, развитие иммунных ответов, в том числе при воспалении кишки. Показано, что эндогенный серотонин усиливает и сокращение толстой кишки. Серотонинергические энтеральные нейроны получают сигналы от всех трех ветвей АНС и отвечают на воздействие высвобождением провоспалительных цитокинов (в частности, IL-1 β , IL-8). Этот медиатор продуцируется различными типами клеток кишки и выполняет множество физиологических функций [8, 10, 19, 74].

5-НТ был впервые идентифицирован как медиатор, обладающий сосудосуживающими свойствами. Его основными источниками в кишке являются тучные клетки и специфические энтерохромаффинные ЕЕС клетки (клетки Кульчицкого). Примерно 90% серотонина в организме секретируется ЕС, еще 5% производится также в структурах ЭНС, что свидетельствует об исключительной важности этого амина для функции кишки. Большое количество 5-НТ рецепторов было идентифицировано в лимфоидных тканях. Вероятно, серотонинергическая передача в лейкоцитах способствует реализации иммунного ответа, либо за счет усиления DC-опосредованной активации Т-клеток, либо через влияние на поляризацию макрофагов и фагоцитоз [19, 68, 74].

Из-за отсутствия прямого контакта между просветом и ЭНС, энтерохромаффинные клетки действуют как посредник, секретируя серотонин и стимулируя близлежащие энтеральные нейроны,

увеличивая моторику и перистальтику кишки. Клетки ЕС базолатерально высвобождают серотонин и для стимуляции сенсорных афферентных нейронов МНС. Серотонинергические нейроны защищают и саму кишечную нервную систему в целом от воспалительного поражения, тогда как слизистая оболочка может выделять провоспалительные медиаторы [19, 58, 59].

Метасимпатические нейроны и иммунные клетки, включая макрофаги, DC, В- и Т-клетки, экспрессируют триптофангидроксилазу (ТРН-1/2), ограничивающую скорость биосинтеза 5-НТ [59, 77]. Экспрессия ТРН-1 обнаружена в ЕС, макрофагах, тучных и Т-клетках. У мышей, лишенных 5-НТ кишечных нейронов из-за потери ТРН-2 в ЖКТ, наблюдается снижение развития кишечных нейронов, особенно экспрессирующих дофамин и гамма-аминомасляную кислоту. У *TRH2-R439H* мутантных мышей (аналогичная мутация у человека связана с тяжелой депрессией) уровни 5-НТ в кишечных нейронах значительно ниже, нежели у контрольных [40, 59].

Серотонин с самого открытия определен как ключевой фактор в развитии синдрома раздраженной кишки (СРК). Стимуляция вагуса инициирует высвобождение 5-НТ в энтерохромаффинных клетках, и это, по-видимому, опосредуется активацией адренергических рецепторов. Считается, что серотонин слизистой оболочки является важнейшей паракринной сигнальной молекулой [19, 76].

Идентифицировано пятнадцать рецепторов 5-НТR, разделенных на семь семейств, наиболее изученные с точки зрения функции кишки – это 5-НТ3R, 5-НТ4R и 5-НТ7R. Активация 5-НТ3R внутренних афферентов в подслизистом и межмышечном сплетениях увеличивает подвижность органа, внося вклад в перистальтический рефлекс у грызунов. 5-НТ3R также экспрессируются на клетках ЕС. Все шесть изоформ 5-НТ4R (А, В, С, D, G, I) экспрессируются в МНС и гладкомышечных клетках кишки, где они регулируют моторику. 5-НТ4R обнаружены также на энтерохромаффинных и бокаловидных клетках. У мышей 5-НТ4 с нокаутом наблюдается потеря кишечных нейронов после первых месяцев жизни. Это может служить доказательством того, что передача 5-НТ сигналов через 5-НТ4 рецептор опосредует постнатальный энтеральный рост, выживаемость и гомеостазис. Активация 5-НТ4R может приводить и к стимуляции возбуждающих холинергических нейронов, что сопровождается высвобождением SP [19, 59, 67, 74].

Серотонин может оказывать про- и противовоспалительное действие в слизистой оболочке кишки посредством активации 5-НТ7 или 5-НТ4 рецепторов [60]. Семейства рецепторов НТR4 и НТR7 связаны с G-белками и повышают уровень клеточного цАМФ [74]. В кишке встречаются три подтипа 5-НТ7R (А, В и С). Имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на то, что 5-НТ7R является важным регулятором воспаления в ЖКТ. В частности, его экспрессия значительно увеличивается при колите, индуцированном декстран-сульфатом натрия (DSS), при этом ингибирование 5-НТ7R улучшает течение колита [67].

Гистамин, как известно, является одним из основных медиаторов нейроиммунной передачи сигналов в кишке. Тучные клетки, продуцирующие и высвобождающие гистамин, играют важную роль в патофизиологии ее воспалительных заболеваний. Гистамин, выделяемый тучными клетками, также регулирует клетки Тreg. Взаимодействие с рецепторами гистамина Н1 в Тreg вызывает снижение экспрессии CD25 и Foxp3, что приводит к снижению и супрессивной активности Тreg [1, 14, 23].

Медиатор может активировать IPAN, причем повышенные уровни гистамина и 5-НТ коррелируют с повышенной активацией подслизистых метасимпатических нейронов. Это увеличение активации подавляется антагонистами 5-НТ и гистаминовых рецепторов. Ингибитор захвата 5-НТ и норэпинефрина амитриптилин подавляет секрецию гистамина тучными клетками, не влияя на продукцию 5-НТ. Последнее дает основание полагать, что секреция гистамина может модулироваться СCh [76].

Существует четыре подтипа гистаминовых рецепторов, связанных с G-белками: Н1, Н2, Н3, Н4. Роль гистамина как нейромодулятора в МНС на животных моделях продемонстрирована следующими эффектами: 1) активация кишечных нервных клеток, с участием в основном Н2-рецепторов; 2) ингибирование высвобождения ацетилхолина и соматостатина нейронами через пресинаптические Н3-рецепторы, а также высвобождение норадреналина из симпатических окончаний. У человека также Н1 и Н4 рецепторы вовлечены в гистаминовый ответ, причем обнаружено Н3-опосредованное возбуждающее действие в подслизистом сплетении кишки. Человеческий гистаминовый Н4-рецептор (hН4R) обладает более высокой конститутивной активностью и как Н1-рецептор (hН1R) участвует в патогенезе аллергических реакций I типа [24, 30].

МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ В КИШКЕ

Слизистая оболочка кишки содержит плотную сеть иммунных клеток, особенно в лимфоидных структурах, таких как Пейеровы бляшки (ПБ). Этот компонент кишечной лимфоидной ткани (gut-associated lymphoid tissue, GALT), состоящий из фолликулов В- и Т-клеток и субэпителиального купола, с DC, участвует в ответе на микробные угрозы. Специализированный фолликул-ассоциированный эпителий, покрывающий ПБ, включает “микроскладчатые” М-клетки, которые захватывают антигены из просвета и транспортируют их в нижележащие лимфоидные области купола для обработки антигенпрезентирующими клетками. Кроме того, GALT представлена организованными лимфоидными структурами (лимфоидные фолликулы и мезентериальные лимфатические узлы, в которых иницируются иммунные ответы) и диффузно распределенными эффекторными клетками (плазматические клетки, макрофаги, тучные клетки, лимфоциты, эозинофилы и DC) в эпителии и собственной пластинке слизистой оболочки кишки [1, 33].

Система врожденного иммунитета представляет собой первую линию защиты от вторжения патогенов. Многие популяции клеток врожденного иммунитета имеют решающее значение для физиологии хозяина, гомеостаза и восстановления определенных тканей, а также защиты от инфекции. При этом, сохранение целостности кишечного барьера имеет первостепенное значение, так как клетки врожденного иммунитета осуществляют эффекторные функции, направленные против патогенов. Барьерный иммунитет слизистой оболочки остро необходим для поддержания комменсальной микробиоты и борьбы с инвазивной бактериальной инфекцией [66].

Распознавание антигенов обеспечивают рецепторы врожденного иммунитета – паттерн-распознающие рецепторы (Pattern-Recognition Receptors, PRR), которые узнают высоко консервативные структуры – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMP) и схожие с ними эндогенные молекулярные структуры – молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждениями (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMP). Многие из них выполняют сигнальные функции, регулируя синтез провоспалительных медиаторов, способствуя адгезии и миграции макрофагов [9].

Представителями PRR являются Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptor, TLR), индуцируемые ретиноевой кислотой рецепторы, подобные гену-1 (RIG-I-like receptors, RLR) и Nod-по-

добные рецепторы (Nod-like-receptor, NLR). Все они содержат домены с богатыми лейцином повторами (leucine-rich repeats, LRR). Активация указанных рецепторов запускает сигнальный каскад реакций, определяющих транскрипцию генов иммунитета, таких как антимикробные вещества и цитокины [1, 26].

Особенности строения и функционирования кишечного эпителия обеспечивают взаимодействие слизистой оболочки с подслизистым слоем через М-клетки, бокаловидные и энтероэндокринные клетки. Мононуклеарные фагоциты в этом случае являются иммунными клетками, контактирующими с различными чужеродными агентами, и, как следствие, участвующими в иммунном ответе на них. Мононуклеарные фагоциты, включая DC и макрофаги, способны распознавать и различать патогенные и непатогенные антигены. При этом они иницируют и поддерживают защитные иммунные ответы в отношении патогенных организмов, в то же время обеспечивая местную и системную толерантность в ответ на безвредные антигены [9, 18, 77].

Макрофаги (Мф) – одни из наиболее распространенных лейкоцитов в слизистой оболочке кишки, необходимые для поддержания функционального гомеостаза. Это сидячие, резидентные в ткани клетки, основная роль которых состоит в очистке и деградации дебриса или патогенов, с небольшой способностью или вообще без способности стимулировать наивные Т-клетки (Naive T cells) [3, 18].

Тканевые макрофаги происходят преимущественно из моноцитов крови, которые мигрируют в ткани и дифференцируются в различные популяции. Активированные макрофаги делятся на подтипы М1 (классически активированные) и М2 (альтернативно активированные). Дифференцировка в М1 стимулируется интерфероном гамма (IFN γ), а также IFN γ совместно с LPS и TNF. Их основные функции – уничтожение патогенных микроорганизмов и индукция воспалительной реакции. При этом секретируются провоспалительные медиаторы. Макрофаги экспрессируют рецепторы IL-1R1, TLR и стимулирующие молекулы, усиливающие воспалительный ответ, а также противовоспалительный цитокин – IL-10, при характерном высоком соотношении IL-12/IL-10. Эти клетки также характеризуются поверхностной экспрессией интегринов CD11c и CD11b, и антигена F4/80 (EGF-подобный модуль, содержащий муцин-подобный гормональный рецептор-1; EMR1). Помимо того, макрофаги кишки экспрессируют CD64, рецептор Fc- γ 1 (Fc γ RI) и

уникально высокие уровни хемокинового рецептора CX3CR1 [18, 50, 77].

Секреция IL-определяет Th1 поляризацию, а IL-1 β и IL-23 направляют иммунный ответ по Th17 пути. M2 поляризация наблюдается при стимуляции интерлейкинами, глюкокортикоидами, иммунными комплексами, агонистами TLR и др. Такие клетки проявляют большую по сравнению с M1 макрофагами способность к фагоцитозу. Для них характерно также низкое отношение IL-12/IL-10. Достаточно четко различаются их подтипы: M2a, M2b и M2c. Примером M2a фенотипа макрофагов являются клетки, скапливающиеся вокруг личинок гельминтов и простейших, аллергены которых индуцируют иммунный Th2 ответ, сопровождающийся продукцией IL-4 и IL-13. Они не секретируют значительных количеств провоспалительных цитокинов, но активно синтезируют особый спектр хемокинов. Для этих клеток характерен синтез IL-10. Важной характеристикой данной популяции является синтез антагониста рецептора IL-1, который, связываясь с IL-1, блокирует его провоспалительное действие [3, 50].

Кишечные макрофаги можно идентифицировать по их анатомическому расположению и в целом разделить на **макрофаги слизистой оболочки или собственной пластинки** (*Lamina propria macrophages*, LpM) и **мышечные макрофаги** (*muscularis macrophages*, MM). LpM преимущественно экспрессируют провоспалительные или M1 гены с повышенной экспрессией CD80 рецепторов по сравнению с MM, в то время как мышечные макрофаги имеют M2 поляризацию и экспрессируют CD86 на значительно более высоком уровне, чем CD80.

LpM макрофаги сосредоточены в эпителии и занимают стратегическое положение для отбора проб люминальных антигенов, фагоцитоза мертвых клеток и устранения проникающих через эпителий патогенов. Вероятно, ввиду регулярного контакта с микробными агентами и локализацией, эти клетки обладают более провоспалительным транскрипционным профилем, чем их аналоги из мышечного слоя. Способность макрофагов слизистой оболочки образовывать трансэпителиальные дендриты (*transepithelial dendrite*, TED), позволяет проникать через эпителий и захватывать потенциальные патогены из просвета кишки. TED-опосредованное распознавание антигенов опосредуется CX3CR1 рецептором [33, 50].

Также была установлена роль LpM в поддержании ниши кишечных стволовых клеток, когда

опосредованное антителами истощение LpM приводит к нарушению дифференцировки клеток Панета и снижению Lgr5⁺ стволовых клеток. Последнее оказывает влияние на дифференцировку и восполнение пула дополнительных ИЕС, включая бокаловидные и М-клетки. Макрофаги, выделенные из собственной пластинки кишки IL-10^{-/-} мышей, у которых развивается колит, подобный воспалительному заболеванию органа (IBD), экспрессируют сниженные уровни I κ BNS, ингибитора активации NF- κ B, который отвечает за подавление LPS-индуцированной продукции цитокинов макрофагами слизистой оболочки. Сдвиг поляризации макрофагов с противовоспалительного “M2” на провоспалительный “M1” вызывает старение. Оно сопровождается повышением содержания цитокинов и иммунных клеток в МНС. Этот фенотипический сдвиг связан с реакцией нервного компонента на воспалительные сигналы, усилением апоптоза и потерей энтеральных нейронов [22, 50].

Мышечные макрофаги (MM) представляют собой клетки, присутствующие в серозном, кольцевом и продольном мышечных слоях, со значительной долей в Мейсснеровом и Ауэрбаховом сплетениях. MM тесно связаны с телами клеток и отростками глии и нейронов, а также с варикозными расширениями по длине симпатических аксонов [17, 33, 53]. Фенотипически их можно определить по высокому уровню экспрессии главного комплекса гистосовместимости (ГКГС класса II), CD163 и CX3CR1. Большая часть популяции MM представлена ранними макрофагами костного мозга и Мф эмбрионального происхождения, имеющими противовоспалительный профиль. Высвобождение LPS при сепсисе приводит к активации MM и усилению регуляции маркера активации лимфоцитов интегрин α L β 2 (*Lymphocyte function-associated antigen 1*, LFA-1) и коррелирует с глубоким снижением перистальтики кишки. Увеличение LFA-1+ MM также коррелирует с проявлениями синдрома послеоперационной кишечной непроходимости (*postoperative ileus*, POI) в организме человека, который характеризуется большим притоком иммунных клеток. Холинергическая стимуляция макрофагов, обусловленная воздействием вагусных эфферентов на кишечные нейроны, снижает количество нейтрофилов и дополнительных макрофагов, облегчает симптомы заболевания. Понимание возможных эффектов активации MM на моторику кишки не ограничивается POI. В контексте индуцированного диабетом гастропареза, продуцируемые MM воспалительные цитокины (IL-6, TNF- α и IL-1 β), по-видимому, способствуют потере пейсмекер-

ных клеток, названных интерстициальными клетками Кахала. МНС кишки при наличии инфекций еще больше смещает эту популяцию макрофагов в сторону тканезащитного профиля. Стимуляция адренергических бета 2 рецепторов (ADR- β 2 MM) энтеральной части МНС приводит к изменению экспрессии генов MM [33, 72].

Мышечные макрофаги находятся в тесном контакте с нейронами мышечного и подслизистого сплетений. Истощение MM существенно изменяет моторику толстой кишки. Среди наиболее дифференциально экспрессируемых генов, костный морфогенетический белок 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2) является одним из факторов, влияющих на устойчивый MM-контроль моторики. Кишечные нейроны, в свою очередь, регулируют количество макрофагов за счет фактора стимуляции колоний 1 (colony stimulating factor 1, CSF1), также известного как фактор стимуляции колоний макрофагов (M-CSF) [45, 50].

Помимо того, взаимодействие между кишечными нейронами и макрофагами мышечной ткани может зависеть от сигналов микробиоты, которая регулирует уровни BMP2 и CSF1. Также макрофаги участвуют в предполагаемом устранении невропатий, о чем свидетельствует их связь с дистрофическими нейронами и нейритами, расположенными по всему миэнтеральному сплетению и в стенке гладких мышц у старых крыс. Паттерны взаимодействий макрофагов и нейронов в кишечнике совпадают с более широко охарактеризованными взаимодействиями микроглии и нейронов в ЦНС [33, 53].

Мышечные макрофаги колонизируют кишку плода мыши раньше кишечных нейронов. Кроме того, кишка новорожденных мышей и человека, в которой отсутствуют энтеральные нейроны МНС, содержит нормальное количество фенотипически интактных MM с хорошо структурированным рисунком. Эти данные позволяют предположить, что энтеральные нейроны не требуются для колонизации кишки MM и что модулирующие нейроиммунные цепи кишки созревают постнатально и могут зависеть от факторов окружающей среды, таких как кишечная микробиота или диета [17].

Дендритные клетки (DC) проникают в монослой эпителия кишки для отбора проб бактерий просвета, не нарушая целостности эпителиального барьера. Это возможно, потому что сами DC экспрессируют белки плотных контактов, такие как окклюдин 1 (zonula occludin 1) и клаудин. Когда патоген преодолевает эпителиальный барьер, DC являются одними из первых антигенпрезентирующих клеток, которые сталкиваются с микробным

агентом. После обнаружения патогена и фагоцитоза DC мигрируют в местные лимфатические узлы (ЛУ) через периферические лимфатические сосуды [25].

DC постоянно мигрируют CCR7-зависимым образом в ЛУ, где они взаимодействуют с рециркулирующими Т-клетками и вызывают их дифференцировку. На миграцию и подвижность постоянного тока влияют симпатические и сенсорные нервные импульсы. Норадренергические аксональные волокна находятся в непосредственной близости от DC, плазматических клеток и в зонах Т-клеток. Медиатор NA может влиять на их миграцию. Незрелые DC также реагируют на NA и на CGRP [29, 51].

В зависимости от стадии их созревания по-разному экспрессируются 5-HTR рецепторы. 5-HT1R и 5-HT2R опосредуют хемотаксис. Уровни IL-1 β и IL-8 увеличиваются после активации 5-HT4R и 5-HT7R рецепторов DC, при этом высвобождение IL-12 и TNF- α снижается. Продукция IL-6 DC повышается после активации 5-HT3R, 5-HT4R и 5-HT7R. DC направляют дифференцировку наивных Т-клеток, и 5-HT участвует в этом процессе [18, 67].

Сенсорные нейроны через SP и CGRP могут регулировать выработку цитокинов IL-12/23 дендритными клетками, а NA может влиять на продукцию, например, IL12, IL-6, посредством связывания с адренорецепторами (β 2, α 1, α 2). Потенциал этих нейротрансмиттеров определяет профиль цитокинов, секретируемых DC, позволяет СНС стимулировать поляризацию Т-клеток в сторону Th1 и выработку эффекторных цитокинов, приводя к усилению Th1-ответа. При воспалении созревание DC является важным этапом в запуске адаптивного иммунного ответа [29, 51]. Следовательно, нервная регуляция косвенно влияет на его формирование.

Тучные клетки (mast cells, MC) циркулируют в крови в небольших количествах в виде незрелых предшественников. Мигрируя в ткани, они завершают свою дифференцировку в зрелые MC под влиянием местного микроокружения, которое определяет их фенотип и функцию. Они концентрируются в непосредственной близости от кровеносных и лимфатических сосудов, и кишечных нервов, в основном в слизистой оболочке (большая часть MC_T – содержат высокие уровни триптазы) и подслизистом слое (фенотип MC_{TS}, содержат триптазу, химазу и карбоксипептидазу) [1, 29, 45, 62].

В ЖКТ, как хорошо известно, находится самая большая популяция тучных клеток в организме,

хоуминг которых зависит от связывания интегрина $\alpha 4\beta 7$ с соответствующими молекулами адгезии и хемокиновым рецептором – 2СХС [1, 62]. Эти высокоспециализированные лейкоцитарные клетки включают большое количество гранул, содержащих предварительно сформированные (гистамин, серотонин, протеазы, гепарин и факторы роста, включая GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), NGF (nerve growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), TNF- α , протеогликианы, инициирующие раннее привлечение иммунных клеток в очаг инфекции) и синтезированные молекулы – простагландины, лейкотриены и цитокины (IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-16 и IL-18) [1, 62].

Тучные клетки выделяют широкий спектр хемотаксических факторов для различных CD4+ Т-хелперных (Th) клеток: CCL3, CCL4, CXCL9 и CXCL10 для Th1; CCL5 и CCL11 для Th2; и CCL2 и CCL20 для Th17. Кроме того, они также поддерживают поляризацию ответов Th-клеток за счет секреции специфических медиаторов, таких как IL-12 и IFN γ для Th1; IL-4 для Th2; IL-6 и TGF β 1 для Th17; и IL-6 и TNF- α для Th22 [1, 63]. МС экспрессируют Kit-рецепторную тирозинкиназу. Kit является лигандом фактора стволовых клеток (SCF) и играет критическую роль в биологии МС, регулируя развитие, миграцию, рост, выживаемость и локальную активацию МС. Другие факторы также могут модулировать рост и выживаемость МС, в том числе IL-3, IL-4, IL-9, IL-10, IL-33, CXCL12, TGF- β и NGF. Нервные волокна кишки продуцируют и секретируют лиганд фактора роста Kit на плазматической мембране, что делает возможным прямой контакт между тучными клетками и нервными волокнами. МС могут реагировать на различные эндогенные стимулы, поскольку экспрессируют рецепторы нейротрансмиттеров (таких как ACh и 5-HT), нейропептидов (таких как SP и VIP), нейротрофины (такие как фактор роста нервов, NGF) и газообразные нейротрансмиттеры (например, NO) [19, 45, 54, 62, 65].

Дегранулирующие тучные клетки высвобождают триптазы, PG, TNF- α и гистамин, чтобы сигнализировать МНС о наличии угрозы в просвете кишки, одновременно привлекая иммунные воспалительные клетки в стенку кишки путем экстравазации из кишечного кровотока. В ответ на электростимуляцию афферентов, воздействие SP или CGRP, капсаицина, соединения 48/80 происходит высвобождение гистамина и протеазы II тучных клеток. Ответы нейронов в МНС на паракринное высвобождение гистамина и других продуктов дегрануляции тучных клеток приводят к

активации центрального генератора паттерна (central pattern generator, CPG). В МНС CPG создают организованные и повторяющиеся двигательные паттерны независимо от сенсорного ввода [38, 63, 70].

Действие гистамина на уровне отдельных нейронов приводит к выработке CPG, который впоследствии трансформируется в повторяющийся паттерн поведения на уровне железистого эпителия и мускулатуры. Активация гистамином рецепторов H2 подтипа переводит нейроны из состояния низкой возбудимости в состояние повышенной возбудимости. Пресинаптическое ингибирующее действие гистамина опосредуется H3 подтипом гистаминовых рецепторов. Тот факт, что воспалительные и иммунные клетки паракринно взаимодействуют с элементами МНС, способствует лучшему пониманию моторики и секреторной патофизиологии при пищевой аллергии, инфекционном энтерите, идиопатическом колите, а также при стрессорных событиях при функциональных желудочно-кишечных расстройствах, таких как СРК [71].

Нейроны в энтеральной части МНС экспрессируют тот же набор рецепторов для продуктов дегрануляции тучных клеток, что и на афферентах блуждающего нерва и спинного мозга. Эти клетки могут высвобождать медиаторы воспаления, такие как IL-1 β и простагландины, которые, в свою очередь, активируют афферентные волокна блуждающего нерва. При этом активация VN подавляет высвобождение провоспалительных цитокинов макрофагами на модели эндотоксемии у крыс [29].

Стимуляция возбудимости нейронов, пресинаптическое подавление высвобождения нейротрансмиттеров и активация сети МНС, ведущие к увеличению секреции слизистой оболочки в сочетании с мощной аборальной пропульсивной подвижностью, могут явиться результатом нейроиммунной коммуникации тучных клеток в кишке. Нейропептиды SP и NGF вызывают высвобождение вазоактивных медиаторов из тучных клеток, тем самым способствуя секреции хлоридов, дисфункции барьера, гипералгезии, диарее, воспалению и изменениям моторики. Из-за малочисленности в норме, роль тучных клеток в нейроиммунном взаимодействии особенно важна при воспалительных состояниях, таких как пищевая аллергия, паразитарная инфекция и некоторые формы синдрома IBS, характеризующихся резким увеличением количества МС. При этом высвобождаемые ими медиаторы приводят

к гиперчувствительности нейронов кишки [45, 54, 61, 66].

ЭКСПРЕССИРУЕМЫЕ В МНС ПАТТЕРН-РАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ

При распознавании микроб-ассоциированных молекулярных паттернов, PRR запускают воспалительный сигнальный каскад, который завершается выработкой провоспалительных цитокинов и хемокинов, опосредующих ответ на вторжение патогенов. На основе гомологии белковых доменов выделяют пять семейств, которые состоят из Toll-подобных рецепторов (TLR), лектиновых рецепторов С-типа (С-type lectin receptors, CLR) рецепторов, содержащих нуклеотид-связывающий домен, (или NOD-подобных) рецепторов, богатых лейцином (LRR), RIG-I-подобных рецепторов (RLR) и AIM2-подобных рецепторов. Связанные с мембраной рецепторы TLR и CLR находятся на поверхности клетки или в эндосомальных компартментах, обнаруживают и распознают микробные лиганды во внеклеточном пространстве и внутри эндосом [1, 25].

PRR экспрессируются на эпителиальных и иммунных клетках, таких как тучные клетки, макрофаги, нейтрофилы, DC, естественные киллеры (NK) и в меньшей степени на эозинофилах и лимфоцитах. При этом имеются данные о синергическом усилении ответа клеток врожденного иммунитета при их одновременной активации парными сочетаниями агонистов PRR, в частности TLR4 + NOD2, TLR4 + TLR9 или TLR9 + NOD2. Интеграция сигнальных путей, идущих от TLR4, TLR9 и NOD2-рецепторов в макрофагах мыши, приводит к возрастанию активности протеинкиназ TAK1, IKK α / β , ERK1/2 и TBK1, являющихся звеньями NF- κ B-, MAPK- и IRF-сигнальных осей. На сегодняшний день появляются данные, что тела и отростки нейронов в энтеральной части МНС распознают различные лиганды патогенов через паттерн-распознающие рецепторы [1, 12, 20, 27, 39].

Продукты комменсальных бактерий способны также взаимодействовать с афферентами ЭНС через PRR. Например, воздействие *Lactobacillus rhamosus* и *Bacteroides fragilis* на эпителий активирует первичные афференты кишки в течение нескольких секунд и повышает их возбудимость в течение нескольких минут. Короткая латентность ортодромных потенциалов действия свидетельствует, что IPAN ответы являются прямыми потенциалами сенсорного действия, опосредованными нервными процессами. Сенсорные нейроны также получают синаптические входы от локаль-

ных цепей кишечных афферентов, о чем свидетельствует регистрация вторичных возбуждающих постсинаптических потенциалов. Кроме того, было обнаружено, что капсульный полисахарид А из *B. fragilis* является критическим медиатором активации сенсорных нейрональных ответов [43].

В целом, имеющиеся данные указывают, что опосредованное бактериальными лигандами усиление возбудимости сенсорных нейронов может снижать перистальтику толстой кишки, и это снижение мышечного напряжения может быть фактором, способствующим пробиотическому облегчению висцеральной боли.

Толл-подобные рецепторы в кишке. В настоящее время известно 13 подтипов рецепторов TLR у млекопитающих, имеющих общий консервативный домен, связанный с Toll-интерлейкином-1 (TIR), которые при этом отличаются специализированным доменом с высоким содержанием лейцина, определяющим специфичность лиганда. Видовые различия демонстрируют отсутствие рецепторов TLR11, TLR12 и TLR13 у человека, а мыши не экспрессируют функциональный TLR10. Активация TLR консервативными антигенами патогенов вызывает быстрые и локализованные ответы, опосредованные фагоцитами через различные сигнальные пути, что приводит к продукции провоспалительных цитокинов, хемокинов (TNF- α и IL-8) и интерферона I типа, а также индуцирует локальный иммунный ответ [20, 26, 35].

Некоторые TLR, такие как TLR3, TLR5 и TLR9, распознают только один тип PAMP, в то время как другие, например, TLR2, по-видимому, распознают несколько разных микробных молекул. После гомо- или гетеродимеризации TLR домены TIR связываются с доменами внутриклеточных адаптерных молекул. Все TLR, кроме TLR3, ассоциируются с TIR-содержащим фактором миелоидной дифференцировки MyD88, который при активации опосредует сигнальный каскад, ведущий к активации фактора транскрипции NF- κ B [35].

Важным свойством данных рецепторов является толерантность к PAMP, экспрессируемым комменсальной микробиотой, с одновременной способностью распознавать антигены патогенов для обеспечения последующего полноценного иммунного ответа против них. Это в основном достигается за счет подавления поверхностной экспрессии TLR2, TLR4 и MD-2 в эпителии кишки и активного участия местных иммунных и нервных клеток [26, 36].

Так, *in vitro*, на модели ИЕС продемонстрировано, что стимуляция LPS или пептидогликаном

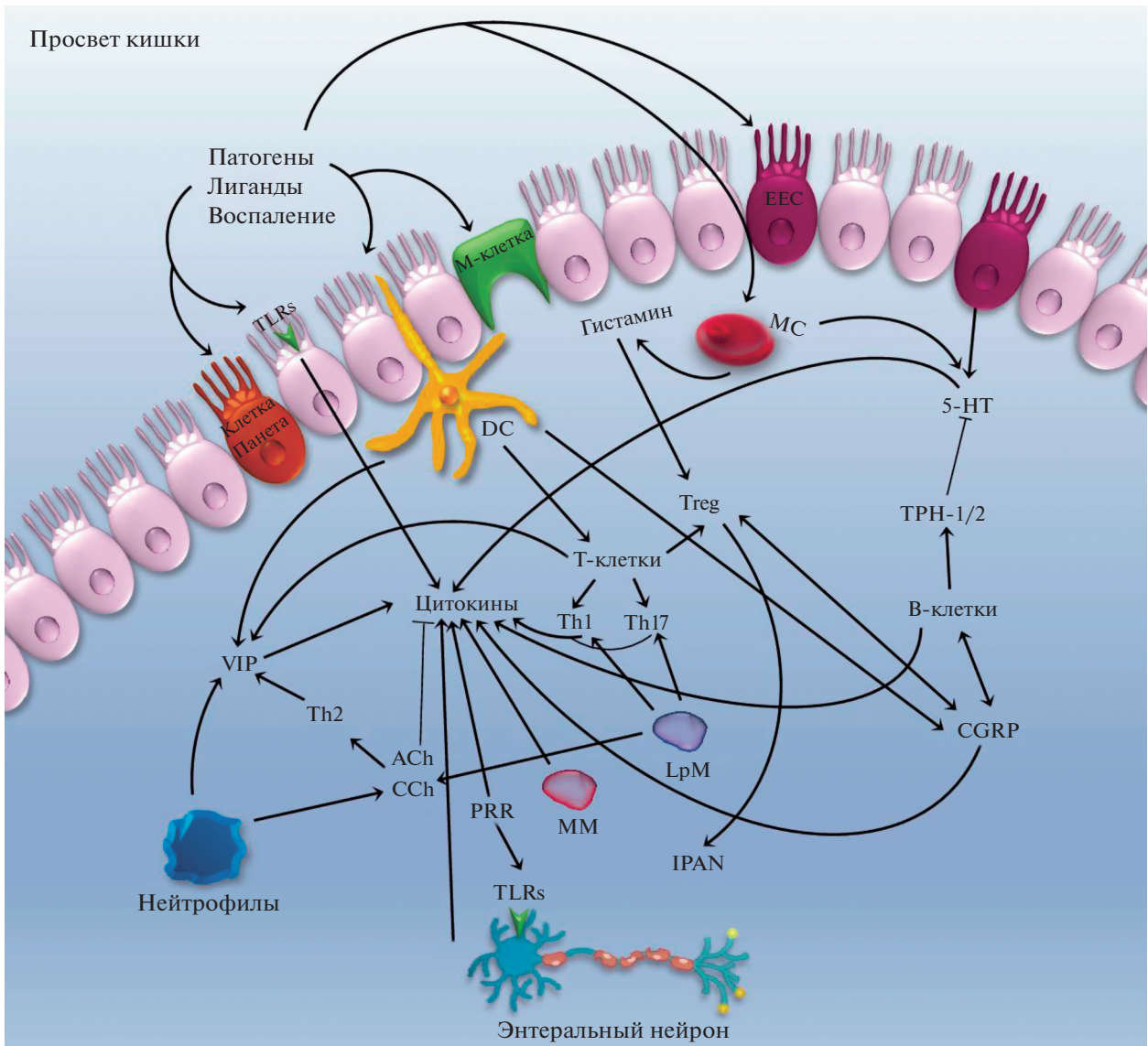


Рис. 2. Схема основных связей между компонентами нейроиммунных взаимодействий.

перемещает конститутивную поверхностную экспрессию TLR2 и TLR4 во внутриклеточные компартменты вблизи базолатеральной мембраны. Кишечный эпителий также использует специфическое тканевое распределение и компартиментализацию TLR-экспрессирующих клеток, чтобы избежать ненужной активации TLR и в то же время обеспечить развитие быстрой и эффективной защиты хозяина от вторжения патогенных организмов. Показано, что эпителиальные клетки крипт экспрессируют TLR2 и TLR4, тогда как зрелые IEC экспрессируют только TLR3. Поскольку эпителиальные клетки крипт не вступают в прямой контакт с комменсальными бактериями, экспрессия ими рецепторов TLR2 и TLR4 не сопровождается негативными последствиями для

собственной микробиоты кишки. Аналогичным образом, экспрессия TLR3 в просвете кишки также не оказывает негативного влияния [26].

Установлено, что человеческие 5-HT+ энтероэндокринные клетки и линии энтероэндокринных клеток мыши экспрессируют несколько типов TLR, включая TLR 1, 2, 4, 5, 6 и 9, активация которых модулирует выработку холецистокинина и усиление секреции воспалительных цитокинов и хемокинов [45]. Таким образом, TLR способны экспрессироваться в кишке различными типами клеток во всех анатомических слоях.

Наличие TLR в первичных сенсорных нейронах может запускать активацию местных аксональных рефлексов, таких как противовоспалительный

рефлекс и периферическое высвобождение сенсорными окончаниями различных медиаторов и нейропептидов в ответ на локальные воздействия. Метасимпатические энтеральные нейроны, как и иммунные клетки, экспрессируют TLR, распознающие PAMP патогенов, такие как LPS грамотрицательных бактерий (TLR4) и липопротеины грамположительных бактерий (TLR2 и TLR6), вирусные РНК (TLR3 и TLR7), метилированные цитидин-фосфатгуанозиновые последовательности CpG-ДНК (TLR9) [12, 20, 26, 27, 35].

TLR4-опосредованная активация кишечных нейронов регулирует выживание нейроцитов и подвижность кишки, тогда как передача сигналов TLR2 влияет на структуру ЭНС и сократимость органа. Сенсорный компонент ЭНС IPAN экспрессирует рецепторы врожденного иммунитета, включая TLR2, TLR3, TLR4 и TLR7 [12, 20, 43].

Конститутивная экспрессия рецепторов TLR2/4/9 толстой кишки взрослых крыс обнаружена в нейронах SMP и LMMP. При этом TLR2 идентифицирован во всех нейронах SMP и LMMP, тогда как TLR4 — только в некоторых телах нейронов и волокнах. Реактивность TLR9 была продемонстрирована для нейронов и межганглионарных пучков. Было также показано, что в нормальных условиях TLR3, TLR4 и TLR7 экспрессируются в нейронах и глиальных клетках межмышечного и подслизистого сплетений тонкой и толстой кишки мыши и крысы, а также в сплетениях подвздошной кишки человека. При этом, по одним данным интенсивность экспрессии TLR4 сильнее в дистальном отделе толстой кишки, по другим — в двенадцатиперстной кишке. В целом демонстрируется тенденция к снижению в анальном направлении [12, 29, 43].

Индукцированная LPS продукция TNF- α кишечными нейронами вызывает нейрональную экспрессию TLR2, посредством активации канонического пути ERK, а также AMPK-зависимым образом. Активация МНС через ингибирование этих путей снижает продукцию TNF- α в миэнтеральном сплетении человека и первичных культурах ЭНС крысы, тем самым модулируя воспалительную реакцию, вызванную эндотоксином. LPS-индуцированное увеличение экспрессии TLR2 в кишечных нейронах может участвовать в защитном ответе на воспалительные или инфекционные стимулы, поскольку недавно показано, что генетический дефицит TLR2 вызывает аномалии в структуре, нейрохимическом кодировании и функции МНС [28].

У мышей с нокаутом TLR2 и TLR4 отмечено уменьшение числа нейронов и глиальных клеток

в дистальном отделе подвздошной кишки в Ауэрбаховом сплетении, где число нитроергических нейронов снижалось. Структурные аномалии в подслизистом сплетении мышцей с нокаутом TLR2 функционально проявлялись как снижение нейронно-управляемых секреторных ответов на холинергическую стимуляцию. Воздействие *in vitro* на культуру гладкомышечных клеток сосудов золотистым стафилококком приводило к TLR2-зависимому двухфазному эффекту на экспрессию белка циклооксигеназы (ЦОГ-2) в мышцах, при этом простагландины, производные ЦОГ-2, обладают значительным сократительным действием на сосуды и мышцы кишки. Следовательно, существует вероятность, что функция гладких мышц кишки может регулироваться простагландинами, происходящими из микрососудов [26].

Стимуляция культур ЭНС эмбрионов крысы селективными лигандами индуцировала активацию NF- κ B и высвобождение цитокинов и хемокинов нейронами и резидентными иммунными. Нейтрализация TLR2 перед воздействием LPS снижает продукцию медиаторов воспаления, тогда как комбинация лигандов TLR2/4 способствует миграции макрофагов. Комбинированная стимуляция культур LPS и CpG-олигонуклеотидом 1826 (лиганды TLR4/9) вызывала синергетическое увеличение хемоаттракции и продукции цитокинов. Эти данные свидетельствуют о том, что МНС в целом, или ее область ЭНС, и особенно кишечные нейроны, могут интегрировать множество микробных сигналов и реагировать относительно избирательно, в зависимости от конкретных стимулированных TLR [27].

На мышинной модели колита, индуцированного тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), которая имитирует болезнь Крона, было показано, что воздействие вазоактивным кишечным пептидом (VIP) может восстанавливать сверхэкспрессию TLR2 и TLR4 до исходного уровня. Механизм действия этого явления неизвестен, но может включать либо VIP-опосредованное подавление активации NF- κ B (ведущее к прекращению дальнейшей экспрессии TLR), либо подавление цитокинов, которые, как известно, вносят вклад в активацию TLR в ИЕС. Это, по видимому, новый механизм, с помощью которого кишечный пептид подавляет активность TLR [43, 73].

Помимо того, VIP оказывает негативную модуляцию передачи сигналов TLR4 путем подавления важных MyD88-зависимых и независимых сигнальных путей. VIP также проявляет ингиби-

рующую активность в отношении ядерной транслокации факторов транскрипции, активированных TLR3 и TLR7 с последующим снижением антивирусных и провоспалительных медиаторов [9].

Хорошо известно, что во время опосредованной LPS TLR4-зависимой кишечной непроходимости обычно наблюдается подавление сократимости гладких мышц кишки. Экспрессия TLR в энтеральных сплетениях подчеркивает присутствие основанной на TLR системы нервного контроля и убедительно свидетельствует о том, что вирусные и бактериальные агенты могут напрямую активировать нейронные ответы кишки без вмешательства иммунных или эпителиальных клеток [14, 20, 26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные выше исследования демонстрируют преимущественное участие энтеральной части МНС и ее медиаторов в механизме воспалений тонкой и толстой кишки, а также в бактериальной защите хозяина комменсальной микробиотой кишки. С одной стороны, сенсорные нейроны способны распознавать бактериальные антигены и инфекционные процессы, генерируя ответ через центральную или периферическую нервную систему. С другой стороны, они также могут модулировать или подавлять врожденные и адаптивные иммунные ответы в ЖКТ посредством нейрогенных механизмов, таких как высвобождение нейропептидов (рис. 2).

Понимание механизмов защиты, опосредованных двунаправленными взаимодействиями в иммунной системе и АНС, имеет огромное значение и может расширить существующие возможности в лечении заболеваний, таких как СРК, IBD, рак ЖКТ и микробные инфекции.

Следует отметить, что в данном обзоре не рассматривались эффекты широко представленных в кишке местных энтероэндокринных клеток. Посредством продукции и высвобождения модуляторов, таких как 5-НТ, хемокинов и цитокинов, они участвуют в нормальных и патофизиологических процессах в ЖКТ через сенсорные волокна и иммунные клетки. Мы полагаем и надеемся, что последующие исследования будут рассматривать уже трехкомпонентные модели нейроиммуноэндокринных взаимодействий в ЖКТ и в других органах и системах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебедева Е.С. и др. Кооперативное взаимодействие сигнальных путей рецепторов TLR4, TLR9 и NOD2 в макрофагах мыши // Иммунология. 2018. Т. 39. № 1. С. 4–11.
2. Мюльберг А.А., Гришина Т.В. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий // Успехи физиологических наук. 2006. Т. 37. № 1. С. 18–27.
3. Нижгородова Д.Б., Левковская А.Н., Зафранская М.М. Иммунологические механизмы нейровоспаления и нейродегенерации // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2018. № 4. С. 27–42.
4. Ноздрачев А.Д. Полиמודальная интероцептивная сенсорная система. // Интегративная физиология: Всероссийская конференция с международным участием, Санкт-Петербург (24–26 сентября 2019 г.). Тезисы докладов. СПб.: Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 2019. С. 183–186.
5. Ноздрачев А.Д. Черниговский В.Н. Избранные труды (К 100-летию со дня рождения). Издательство “Наука”, 2007. С. 30–223
6. Павленко В.В. и др. Провоспалительные цитокины как предикторы эффективности фармакотерапии язвенного колита // Колопроктология. 2016. № S1. С. 98–98.
7. Порсева В.В., Маслоков П.М., Ноздрачев А.Д. Серое вещество спинного мозга. СПб.: Из-во С.-Петерб. ун-та, 2021. 184 с.
8. Самотруева М.А., Теплый Д.Л., Тюренков И.Н. Пути реализации нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий // Естественные науки. 2009. Т. 4. С. 112–130.
9. Сарбаева Н.Н., Пономарева Ю.В., Милякова М.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами // Гены и клетки. 2016. Т. 11. № 1. С. 9–17.
10. Смирнов В.М. и др. Серотонинергическая регуляция сокращений двенадцатиперстной кишки // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015. № 10. С. 55–60.
11. Тучина О.П. Нейро-иммунные взаимодействия в холинергическом противовоспалительном пути // Гены и клетки. 2020. Т. 15. № 1. С. 23–28.
12. Филиппова Л.В. и др. Экспрессия Толл-подобных рецепторов 4 в нервных сплетениях двенадцатиперстной, тощей и ободочной кишки крысы // Докл. Академии наук. Федеральное государственное бюджетное учреждение “Российская академия наук”, 2012. Т. 445. № 3. С. 353–353.
13. Филиппова Л.В., Ноздрачев А.Д. Интероцепция и нейроиммунные взаимодействия. Наука, 2007. 296 с.
14. Филиппова Л.В. Ноздрачев А.Д. Участие периферических сенсорных структур автономной нервной системы в механизмах нейроиммунных взаимодействий // Российский физиологический журн. им. И.М. Сеченова. 2014. Т. 100. № 10. С. 1138–1151.

15. *Филиппова Л.В., Ноздрачев А.Д.* Висцеральные афференты. СПб.: Информ-Навигатор, 2011. 415 с.
16. *Albert-Bayo M. et al.* Intestinal mucosal mast cells: key modulators of barrier function and homeostasis // *Cells*. 2019. T. 8. № 2. С. 135.
17. *Avetisyan M. et al.* Muscularis macrophage development in the absence of an enteric nervous system // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018. V. 115. № 18. P. 4696–4701.
18. *Bain C.C., Mowat A.M.I.* The monocyte-macrophage axis in the intestine // *Cellular immunology*. 2014. V. 291. № 1–2. P. 41–48.
19. *Banskota S., Ghia J.E., Khan W.I.* Serotonin in the gut: Blessing or a curse // *Biochimie*. 2019. V. 161. P. 56–64.
20. *Barajon I. et al.* Toll-like receptors 3, 4, and 7 are expressed in the enteric nervous system and dorsal root ganglia // *J. Histochemistry & Cytochemistry*. 2009. V. 57. № 11. P. 1013–1023.
21. *Barnes M.A., Carson M.J., Nair M.G.* Non-traditional cytokines: how catecholamines and adipokines influence macrophages in immunity, metabolism and the central nervous system // *Cytokine*. 2015. V. 72. № 2. P. 210–219.
22. *Becker L. et al.* Age-dependent shift in macrophage polarisation causes inflammation-mediated degeneration of enteric nervous system // *Gut*. 2018. V. 67. № 5. P. 827–836.
23. *Breunig E. et al.* Histamine excites neurones in the human submucosal plexus through activation of H1, H2, H3 and H4 receptors // *The J. physiology*. 2007. V. 583. № 2. P. 731–742.
24. *Brinkman D.J. et al.* Neuroimmune interactions in the gut and their significance for intestinal immunity // *Cells*. 2019. V. 8. № 7. P. 670.
25. *Brubaker S.W. et al.* Innate immune pattern recognition: a cell biological perspective // *Annual review of immunology*. 2015. V. 33. P. 257–290.
26. *Buchholz B.M., Bauer A.J.* Membrane TLR signaling mechanisms in the gastrointestinal tract during sepsis // *Neurogastroenterology & Motility*. 2010. V. 22. № 3. P. 232–245.
27. *Burgueño J.F. et al.* TLR2 and TLR9 modulate enteric nervous system inflammatory responses to lipopolysaccharide // *J. neuroinflammation*. 2016. V. 13. № 1. P. 1–15.
28. *Coquenlorge S. et al.* Modulation of lipopolysaccharide-induced neuronal response by activation of the enteric nervous system // *J. neuroinflammation*. 2014. V. 11. № 1. P. 202.
29. *Costes L.M.M. et al.* Neural networks in intestinal immunoregulation // *Organogenesis*. 2013. V. 9. № 3. P. 216–223.
30. *Deml K.F. et al.* Interactions of histamine H1-receptor agonists and antagonists with the human histamine H4-receptor // *Molecular pharmacology*. 2009. V. 76. № 5. P. 1019–1030.
31. *Flierl M.A. et al.* Catecholamines-crafty weapons in the inflammatory arsenal of immune/inflammatory cells or opening Pandora's box? // *Molecular medicine*. 2008. V. 14. № 3. P. 195–204.
32. *Fung C., Vanden Berghe P.* Functional circuits and signal processing in the enteric nervous system // *Cellular and molecular life sciences*. 2020. V. 77. № 22. P. 4505–4522.
33. *Gabanyi I. et al.* Neuro-immune interactions drive tissue programming in intestinal macrophages // *Cell*. 2016. V. 164. № 3. P. 378–391.
34. *Garza A. et al.* Expression of nicotinic acetylcholine receptors and subunit messenger RNAs in the enteric nervous system of the neonatal rat // *Neuroscience*. 2009. V. 158. № 4. P. 1521–1529.
35. *Harris G., KuoLee R., Chen W.* Role of Toll-like receptors in health and diseases of gastrointestinal tract // *World journal of gastroenterology: WJG*. 2006. V. 12. № 14. P. 2149–2160.
36. *Hodo T.W. et al.* Critical Neurotransmitters in the Neuroimmune Network // *Frontiers in Immunology*. 2020. V. 11. P. 1869–1869.
37. *Holzer P.* Efferent-like roles of afferent neurons in the gut: blood flow regulation and tissue protection // *Autonomic Neuroscience*. 2006. V. 125. № 1–2. P. 70–75.
38. *Hu H., Spencer N.J.* Enteric nervous system structure and neurochemistry related to function and neuropathology // *Physiology of the gastrointestinal tract*. Academic Press, 2018. P. 337–360.
39. *Hyland N.P., Cryan J.F.* Microbe-host interactions: Influence of the gut microbiota on the enteric nervous system // *Developmental Biology*. 2016. V. 417. № 2. P. 182–187.
40. *Israelyan N. et al.* Effects of serotonin and slow-release 5-hydroxytryptophan on gastrointestinal motility in a mouse model of depression // *Gastroenterology*. 2019. V. 157. № 2. P. 507–521. e4.
41. *Jarret A. et al.* Enteric nervous system-derived IL-18 orchestrates mucosal barrier immunity // *Cell*. 2020. V. 180. № 1. P. 50–63. e12.
42. *Jayawardena D. et al.* Expression and localization of VPAC1, the major receptor of vasoactive intestinal peptide along the length of the intestine // *American J. Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2017. V. 313. № 1. P. G16–G25.
43. *Lai N.Y., Mills K., Chiu I.M.* Sensory neuron regulation of gastrointestinal inflammation and bacterial host defence // *J. internal medicine*. 2017. V. 282. № 1. P. 5–23.
44. *Margolis K.G. et al.* Enteric neuronal density contributes to the severity of intestinal inflammation // *Gastroenterology*. 2011. V. 141. № 2. P. 588–598. e2.
45. *Margolis K.G., Gershon M.D., Bogunovic M.* Cellular organization of neuroimmune interactions in the gastrointestinal tract // *Trends in immunology*. 2016. V. 37. № 7. P. 487–501.

46. *Martínez C. et al.* A Clinical Approach for the Use of VIP Axis in Inflammatory and Autoimmune Diseases // *International J. Molecular Sciences*. 2020. V. 21. № 1. P. 65–105.
47. *Meerschaert K.A. et al.* Unique molecular characteristics of visceral afferents arising from different levels of the neuraxis: location of afferent somata predicts function and stimulus detection modalities // *J. Neuroscience*. 2020. V. 40. № 38. P. 7216–7228.
48. *McCoy E.S., Taylor-Blake B., Zylka M.J.* CGRP α -expressing sensory neurons respond to stimuli that evoke sensations of pain and itch // *PloS One*. 2012. V. 7. № 5. P. e36355–e36355.
49. *Mittal R. et al.* Neurotransmitters: The critical modulators regulating gut–brain axis // *J. cellular physiology*. 2017. V. 232. № 9. P. 2359–2372.
50. *Muller P.A., Matheis F., Mucida D.* Gut macrophages: key players in intestinal immunity and tissue physiology // *Current Opinion in Immunology*. 2020. V. 62. P. 54–61.
51. *Ordovas-Montanes J. et al.* The regulation of immunological processes by peripheral neurons in homeostasis and disease // *Trends in immunology*. 2015. V. 36. № 10. P. 578–604.
52. *Pabello N.G., Lawrence D.A.* Neuroimmunotoxicology: Modulation of neuroimmune networks by toxicants // *Clinical Neuroscience Research*. 2006. V. 6. № 1–2. P. 69–85.
53. *Phillips R.J., Powley T.L.* Macrophages associated with the intrinsic and extrinsic autonomic innervation of the rat gastrointestinal tract // *Autonomic Neuroscience*. 2012. V. 169. № 1. P. 12–27.
54. *Reber L.L. et al.* Potential effector and immunoregulatory functions of mast cells in mucosal immunity // *Mucosal immunology*. 2015. V. 8. № 3. P. 444–463.
55. *Rychlik A. et al.* Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP) in the Intestinal Mucosal Nerve Fibers in Dogs with Inflammatory Bowel Disease // *Animals*. 2020. V. 10. № 10. P. 1759–1770.
56. *Savidge T.C.* Epigenetic regulation of enteric neurotransmission by gut bacteria // *Frontiers in cellular neuroscience*. 2016. V. 9: 503. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00503>
57. *Smith T.K., Koh S.D.* A model of the enteric neural circuitry underlying the generation of rhythmic motor patterns in the colon: the role of serotonin // *American J. Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2017. V. 312. № 1. P. G1–G14.
58. *Spencer N.J., Hu H.* Enteric nervous system: sensory transduction, neural circuits and gastrointestinal motility // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2020. P. 1–14.
59. *Spohn S.N., Mawe G.M.* Non-conventional features of peripheral serotonin signalling—the gut and beyond // *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017. V. 14. № 7. P. 412–420.
60. *Sun X. et al.* Vasoactive intestinal peptide stabilizes intestinal immune homeostasis through maintaining interleukin-10 expression in regulatory B cells // *Theranostics*. 2019. V. 9. № 10. P. 2800–2811.
61. *Traina G.* Mast cells in gut and brain and their potential role as an emerging therapeutic target for neural diseases // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019. V. 13: 345. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00345>
62. *Uranga J.A., Martínez V., Abalo R.* Mast Cell Regulation and Irritable Bowel Syndrome: Effects of Food Components with Potential Nutraceutical Use // *Molecules*. 2020. V. 25. 4314; <https://doi.org/10.3390/molecules25184314>
63. *Vasamsetti S.B. et al.* Sympathetic neuronal activation triggers myeloid progenitor proliferation and differentiation // *Immunity*. 2018. V. 49. № 1. P. 93–106. e7.
64. *Verma A.K. et al.* Neuroendocrine cells derived chemokine vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in allergic diseases // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2017. V. 38. P. 37–48.
65. *Vu J.P. et al.* Inhibition of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) induces resistance to dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis in mice // *J. Molecular Neuroscience*. 2014. V. 52. № 1. P. 37–47.
66. *Wang G.D. et al.* Innervation of enteric mast cells by primary spinal afferents in guinea pig and human small intestine // *American J. Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2014. V. 307. № 7. P. G719–G731.
67. *Wang S.J., Sharkey K.A., McKay D.M.* Modulation of the immune response by helminths: a role for serotonin? // *Bioscience Reports*. 2018. V. 38. № 5. BSR20180027 <https://doi.org/10.1042/BSR20180027>
68. *Wang X.N. et al.* Orthogonal label and label-free dual pretreatment for targeted profiling of neurotransmitters in enteric nervous system // *Analytica Chimica Acta*. 2020. V. 1139. P. 68–78.
69. *Watson C., Kirkcaldie M., Paxinos G.* The brain: an introduction to functional neuroanatomy // *Academic Press*, 2010. P. 43–47.
70. *Wood J.D.* Autonomic brain in the gut // *Integrative Physiology*. 2020. V. 1. № 1. P. 5–10.
71. *Wood J.D.* Enteric nervous system: Brain-in-the-gut // *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. Academic Press, 2018. P. 361–372.
72. *Wu L. et al.* Bidirectional role of β 2-adrenergic receptor in autoimmune diseases // *Frontiers in pharmacology*. 2018. V. 9:1313. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01313>
73. *Wu X. et al.* Vasoactive intestinal polypeptide promotes intestinal barrier homeostasis and protection against colitis in mice // *PloS one*. 2015. V. 10. № 5. P. e0125225–e0125225.
74. *Yabut J.M. et al.* Emerging roles for serotonin in regulating metabolism: New implications for an ancient

- molecule // *Endocrine reviews*. 2019. V. 40. № 4. P. 1092–1107.
75. *Yalvac M.E. et al.* VIP-expressing dendritic cells protect against spontaneous autoimmune peripheral polyneuropathy // *Molecular Therapy*. 2014. V. 22. № 7. P. 1353–1363.
76. *Yoo B.B., Mazmanian S.K.* The enteric network: interactions between the immune and nervous systems of the gut // *Immunity*. 2017. V. 46. № 6. P. 910–926.
77. *Zigmond E., Jung S.* Intestinal macrophages: well educated exceptions from the rule // *Trends in immunology*. 2013. V. 34. №. 4. P. 162–168.

Intestinal Interoceptors in Neuroimmune Interactions

O. N. Platonova^{1, *}, E. Yu. Bystrova¹, K. A. Dvornikova¹, and A. D. Nozdrachev^{1, 2}

¹Laboratory of Interoception, I.P. Pavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg, 199034 Russia

²Saint Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: olgaplatonova1991@mail.ru

Abstract—Afferent interoceptors are most widely represented in the enteric part of the metasympathetic nervous system (MNS). They were founded out in all anatomical layers of the gastrointestinal wall from proximal to distal parts. The review primarily focuses on current data about normal and pathophysiological processes mediated by neuroimmune interactions. The data suggest that bi-directional communication is proceeded by signaling molecules and receptors, which are mutually expressed by the nervous and immune components. The modulation mechanisms of responses are carried out through the interoceptors activation, as well as through immune cells, that determine inflammatory or proinflammatory pathways of responses. This review present the latest advances in our understanding of how immune cells and the ENS intrinsic primary afferent neurons (IPANs) detect and response to mediators like acetylcholine (ACh), catecholamine (CCh), substance P (SP), calcitonin gene-related peptide (CGRP), vasoactive intestinal peptide (VIP), serotonin (5-HT) and histamine.

Keywords: afferents, inflammation, interoceptors, metasympathetic nervous system, MNS, neuroimmune interactions, enteric nervous system, ENS, intestine

УДК 577.29+577.24

ВКЛАД ПРОТЕОМИКИ И МЕТАБОЛОМИКИ В ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА К УСЛОВИЯМ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ

© 2022 г. И. М. Ларина^а, Л. Х. Пастушкова^а, Д. Н. Каширина^а*, М. Г. Тюжин^а^аФГБУН ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, 123007 Россия

*e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru

Поступила в редакцию 29.03.2022 г.

После доработки 01.04.2022 г.

Принята к публикации 02.04.2022 г.

Бурное развитие ОМИК-технологий привело к появлению новых инструментов для исследования физиологии человека — протеомики, метаболомики. Выявление, одновременно, огромного числа биологически активных молекул — белков, липидов, метаболитов, дает информацию о составе биологических жидкостей, динамике ее изменения, молекулярных взаимодействиях и механизмах ответа на различные воздействия, что позволяет расширить наши представления о функционировании систем организма и делать выводы, имеющие, в том числе, и предсказательную силу. При этом отдельные обнаруживаемые в крови молекулы могут служить маркерами различных заболеваний и премоурбидных состояний. Однако, успешное применение биомаркеров в клинике обеспечивается успехом изучения динамики состава и уровня биомолекул в здоровом организме, а также их изменений в зависимости от диеты, физической нагрузки, возраста человека, влияния факторов среды и других параметров, определяющих макроскопическое окружение организма. Обзор посвящен анализу исследований еще одного важного аспекта, варибельности уровня белков, липидов и метаболитов как во времени, так и меж-индивидуальной. Сложность сопоставлению результатов ОМИК-исследований добавляет аналитическая варибельность. В обзоре раскрываются вопросы возраст-зависимых изменений состава биологических молекул и метаболитов, влияния двигательной активности и характера диеты на протеом, а также варибельности биологического состава жидкостей тела здорового человека. Построение цепей взаимодействий является важным применением и часто целью соответствующих ОМИКсных исследований, что определяет дизайн конкретных исследований. В будущем это послужит обоснованием разработки перспективных средств и методов терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными со старением человека, заболеваниями, сопряженными с возрастом, снижением двигательной активности и метаболическими нарушениями.

Ключевые слова: протеомика, метаболомика, липидомика, плазма, возраст, диета, физическая активность, варибельность

DOI: 10.31857/S0301179822030079

ВВЕДЕНИЕ

Расшифровка генома человека привела к бурному развитию ОМИК-технологий в последние две декады. Для наук о жизни, в том числе физиологии человека, это означало новые возможности — не только методические, но концептуальные. Протеомика и метаболомика на основе хромато-масс-спектрометрии дают возможность исследователю не только с высокой точностью и специфичностью определять состав молекул конкретных классов, идентифицируемых в биологических образцах, но — и это основное их преимущество — в одной и той же пробе, одновременно, получить информацию о сотнях и тысячах биологически важных компонентов. Последнее дает

возможность и основание непосредственного сравнения их концентраций, ее динамики, взаимозависимости параметров.

Плазма крови представляет собой сложную по составу биологическую жидкость, содержащую белки, углеводы, липиды, гормоны, электролиты, растворенные газы. Это связано с тем, что кровь контактирует со всем органами и клетками организма. Поэтому информация об изменениях состава молекул в крови может служить отправной точкой для построения выводов о физиологических процессах, приводящих к соответствующим изменениям состава.

Физиология человека, с позиций системной биологии, используя возможности ОМИК-мето-

дов, может поставить новые вопросы, которые на предшествующем этапе развития решались медленнее, трудоемко и давали частные результаты. К таким важным для физиологии человека вопросам, на наш взгляд, относятся, возраст-зависимые изменения протеома и метаболома, вариабельность биологического состава основных жидкостей тела человека, влияние двигательной активности и характера диеты на протеом.

ВОЗРАСТ-ЗАВИСИМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕОМА

Старение населения в мире стало проблемой общественного здравоохранения с важным социально-экономическим аспектом. Сохранение физической и когнитивной функций является основным направлением геронтологических исследований, но важно признать, что для достижения этой цели требуется глубокое понимание молекулярных, клеточных и физиологических механизмов, которые, в конечном счете, определяют функциональные изменения. Именно протеомные исследования помогают “проложить путь” для терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными с возрастом.

Исследование стабильности молекулярных профилей биологических жидкостей здоровых людей с течением времени является важной задачей медицины. Мульти-омиксный анализ Tebani A., выполненный на биоматериале 100 здоровых добровольцев (в возрасте от 50 до 65 лет) методами протеомики, транскриптомики, липидомики, метаболомики, с исследованием аутоантител, профиля иммунных клеток, а также кишечной микробиоты и параметров клинической химии, показал высокую межиндивидуальную вариабельность в различных группах молекулярных показателей. В то же время авторы отметили низкую внутрииндивидуальную (“продольную” во времени) вариабельность. Авторы работы полагают, что каждый обследованный доброволец из их когорты имел уникальный и стабильный профиль белков плазмы на протяжении всего периода исследования, на основе достаточно прочной связи между данными ОМИК технологий и рутинными параметрами клинической химии. Тем не менее, авторы подтверждают, что комплексное омиксное профилирование в лонгитюдном режиме – это перспективное направление для развития методов персонализированной медицины [127].

Протеомные изменения

Тапака Т. с коллегами [126] с целью изучения протеомных признаков хронологического возраста обследовали когорту из 240 здоровых мужчин и женщин в возрасте 22–93 лет, которые не

имели клинических проявлений соматических заболеваний и когнитивных нарушений. Был количественно определен 1301 белок плазмы крови, анализом SOMAScan (SomaLogic, Боулдер, Колорадо, США). При использовании порога значимости $p \leq 3.83 \times 10^{-5}$, было показано, что 197 белков положительно коррелируют с возрастом, а 20 белков – отрицательно. При этом GDF15 имел самую сильную положительную корреляцию с возрастом ($p = 7.49 \times 10^{-56}$), но не был связан с рисками нарушений функции сердечно-сосудистой системы, такими, как уровень холестерина или маркеров воспаления. Функциональные пути, обогащенные 217 ассоциированными с возрастом белками, включали процессы свертывания крови, воспалительные пути, процессы, связанные с хемокинами, активностью пептидаз и апоптозом. Используя модели эластичной сетевой регрессии, авторы предложили протеомную сигнатуру возрастных изменений протеома на основе относительных концентраций 76 белков с наиболее значимыми корреляциями с хронологическим возрастом ($r = 0.94$), среди которых GDF15, фибриноген, фибронектин, SERPINF2, SERPING1, SERPINA3, TIMP1, TIMP3, CCL11, TNFRSF1A, TNFRSF1B и др. [126].

Xu R. с коллегами с помощью метода TMT-ЖХ-МС/МС исследовали протеом плазмы у 118 здоровых взрослых лиц разных возрастных групп: 21–30 лет (молодые), 41–50 лет (среднего возраста) и ≥ 60 лет (пожилые). Было показано, что число дифференциально экспрессируемых белков при сравнении групп молодых и среднего возраста, среднего возраста и пожилых, молодых и пожилых составило 82, 22 и 99 соответственно. Биоинформатические подходы анализа данных показали, что дифференциально экспрессируемые в группах белки обогащали такие физиологические процессы, как “негативная регуляция пролиферации гладкомышечных клеток”, “свертывание крови”, “каскады комплемента и коагуляции”. Функциональное фенотипирование протеома показало, что протеомные профили плазмы крови молодых людей разительно отличаются от профилей лиц среднего и пожилого возраста [136].

Liu C.W. с коллегами предоставили базу данных протеомов плазмы детей, от новорожденных до подростков, с продольными паттернами экспрессии 1747 белков. Из общего числа 970 белков плазмы имели возрастные тенденции экспрессии, что продемонстрировало важность лонгитюдного профилирования для выявления потенциальных биомаркеров, специфичных для выявления детских заболеваний, и необходимость строго соответствующих возрасту клинических

образцов в перекрестном исследовании в педиатрической популяции [74].

Существует большое количество литературы, подробно описывающей протеомные изменения при патологии, однако исследований по количественному исследованию протеома плазмы у здоровых детей до пяти лет по-прежнему недостаточно. В исследовании Vjelosevic S. с соавторами, используя SWATH-MS, идентифицировали и количественно определили белки плазмы крови здоровых новорожденных, младенцев до 1 года, детей в возрасте от 1 года до 5 лет и взрослых. Более 100 белков (из 940) показали значительные различия в уровнях экспрессии в этих возрастных группах. Протеомные профили плазмы новорожденных поразительно отличались от таковых у детей старшего возраста и взрослых. Результаты этого исследования отображают вариации в экспрессии белков и обогащении ими молекулярных путей, часто связанных с заболеванием, учет этого обстоятельства имеет важное клиническое значение [10].

Известно, что гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обладает низкой трансцеллюлярной проницаемостью. Недавние исследования показали, что старение мозга чувствительно к циркулирующим белкам. Авторы использовали сотни меченых белков из протеома плазмы мыши и изучали их проникновение через ГЭБ в паренхиму здорового мозга животного. Показано, что в отличие от IgG-антител, поглощение белков плазмы уменьшается в старческом мозге, что обусловлено возрастным сдвигом в механизме транспорта от опосредованного лиганд-специфическим рецептором переноса к неспецифическому кавеоларному транцитозу. Этот возрастной сдвиг происходит наряду со специфической потерей покрытия перичитами. Фармакологическое ингибирование активируемой с возрастом щелочной фосфатазы, предполагаемого отрицательно регулятора транспорта, увеличивает поглощение мозгом терапевтически значимых уровней трансферрина, антител к рецептору трансферрина. Эти результаты выявляют как степень транцитоза физиологических белков в здоровом мозге, так и механизм широко распространенной дисфункции ГЭБ с возрастом, что дает направление для развития стратегии усиления доставки лекарств [138].

В работе [73] определены 15 белков плазмы, которые были связаны с риском снижения когнитивных функций у пожилых. Показано, что эту группу протеинов составляют 14 секреторных белков и 1 белок клеточной мембраны, в основном экспрессирующиеся вне ЦНС. В предшествующих данному исследованию работах сообщалось,

что белки SAP3, NPS-PLA2, IGFBP-7, MIC-1, TIMP-4 и OPG связаны с деменцией в исследованиях случай–контроль [15, 47, 139], а TREM2 и N-концевой про-BNP – в проспективных когортных исследованиях [92, 129]. Повышенный риск развития деменции отмечен у лиц с высоким уровнем SVEP1, HE4, CDCP1, SIGLEC-7, MARCKSL1, CRDL1 или RNAS6 в плазме. Наблюдаемые связи подкрепляются физиологически, поскольку существует несколько механизмов, которые могут связать 15 белков с патологиями деменции, включая иммунную дисфункцию, дисфункцию ГЭБ, повреждение сосудов и центральную резистентность к инсулину [11, 26].

Одним из сильнейших факторов риска развития болезни Альцгеймера (БА) является изменение транскрипции с аллели $\epsilon 4$ гена аполипопротеина E (APOE4), влияющей на способность связывать липиды. В головном мозге APOE секретируется преимущественно астроцитами и микроглией, а затем образует частицы, подобные липопротеинам высокой плотности (ЛПВП). Эта липидная форма APOE играет жизненно важную роль в транспорте холестерина, метаболизме липидов, метаболизме и клиренсе A β [137]. В исследовании механизмов развития БА Ojo J.O. с соавторами сравнили протеом образцов сосудов головного мозга из нижней лобной извилины здоровых людей и пациентов с БА той же возрастной группы [93]. Авторы наблюдали 217 дифференциально экспрессируемых белков в контрольной группе по сравнению с БА, при этом эти белки обогащали более 40 молекулярных путей, включая передачу сигналов EIF2, хемокинов и сиртуинов, окислительное фосфорилирование, митохондриальные функции, созревание фагосом, механизмы репарации ДНК. Наиболее значимо измененными путями из них были митохондриальная дисфункция и передача сигналов хемокинов, что указывает на то, что аллель/изоформа E2 может играть специфическую роль в аспектах энергетической биоэнергетики и транспорта иммунных продуктов в стареющем мозге. Эти протеомные изменения, по-видимому, затрагивают различные типы клеток, поскольку было обнаружено, что уровни экспрессии определенных важных белков при старении оказываются специфичными для гладкомышечных клеток, перичитов, астроцитов и клеток эндотелия сосудов [93].

Старение характеризуется накоплением повреждений и других изменений, ведущих к потере функциональности и адаптивного потенциала, что имеет негативные, пагубные последствия для организма. В процессе эволюции развились как уникальные, так и общие механизмы противодействия некоторым из этих изменений. Меха-

низмы защиты от повреждений в основном контролируются генетически. Характеристика последствий изменений в синтезе белка и точности трансляции, а также определение того, является ли измененная трансляция патологической или адаптивной, необходимы для понимания процесса старения, а также для разработки подходов к целевой регуляции трансляции как стратегии увеличения продолжительности жизни [7]. Функциональность всей системы белков в любом организме требует поддержания точного баланса процессов синтеза, деградации и функции каждого белка, при этом старение сдвигает этот баланс, что чаще всего приводит к патологии.

Проведенные к настоящему времени исследования показывают, что ни один лабораторный биомаркер не является специфическим в прогнозировании или диагностике старческой дряхлости. Однако многогранный патогенез этого состояния предполагает, что мультимаркерный подход, которому предшествует предварительная идентификация специфических сигнатур, может быть наиболее многообещающей стратегией в диагностике дряхлости. Мышечный протеом, хроническое слабовыраженное воспаление, наряду с характерными профилями сосудов и гемостаза, могут помочь в прогнозировании или диагностике дряхлости [93].

Jonker M.J. с коллегами сравнили протеомы образцов пяти различных тканей (печени, почек, селезенки, легких и мозга) мышей в возрасте от 3 мес. до 3 лет [55]. Они обнаружили несколько тканеспецифических эффектов, таких, как накопление липофусцина в головном мозге и печени, утолщение гломерулярной мембраны в почках, усиление перибронхиолярной лимфоидной пролиферации в легких. Также авторы обнаружили, что во всех тканях активируется *Lilrb4* (кодирующий лейкоцитарный иммуноглобулин, подобный рецептору V4). Транскриптомный анализ показал, что “иммунные гены” были подавлены в селезенке, но активизированы в почках и легких [55].

Известно, что старение связано с гипертонией и нарушением регуляции мозгового кровотока, которые являются основными факторами риска сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний. Rabaglino M.B. с соавторами стремились охарактеризовать возрастные изменения в сосудистом протеоме у здоровых мышей с использованием масс-спектрометрии и биоинформатического анализа, при изучении образцов средних мозговых артерий и резистентных брыжеечных артерий у молодых (3 мес.) и животных среднего возраста (14 мес.). Увеличение возраста значительно повлияло на 31 белок, тогда как 172 белка по-разному экспрессировались в зависи-

мости от типа сосуда. Иерархическая кластеризация показала, что экспрессия 207 белков была значительно изменена или сгруппирована по возрасту. Так, в KEGG наиболее обогащенными путями при увеличении возраста оказались: путь витамина B6, биосинтез антибиотиков, регуляция актинового цитоскелета и эндоцитоз. И хотя старение оказывает менее выраженное влияние на протеом исследованных образцов резистентной артерии, чем тип сосуда, регуляция актинового цитоскелета, включая путь RhoA/Rho-kinase, является важной мишенью в механизме возрастной гипертонии [105].

При старении миокард подвергается ряду структурных и функциональных изменений, которые могут наблюдаться на клеточном, внеклеточном и тканевом уровнях. Морфологическими признаками старения сердца являются прогрессирующая гипертрофия кардиомиоцитов, воспаление и постепенное развитие сердечного фиброза. С возрастом увеличивается отложение коллагена, способность к деградации внеклеточного матрикса (ЕСМ) также растет из-за повышенной экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs). Белки внеклеточного матрикса миокарда, накапливающиеся с возрастом, включают гликопротеины, протеогликаны, гликозаминогликаны, матрицеллюлярные белки и интегрины [82].

Старение кожи связано со структурно-функциональными изменениями внеклеточного матрикса, частично обусловленными протеолитической деградацией. Поскольку цистеиновые катепсины являются основными протеазами, расщепляющими матриксный белок, Panwar P. с коллегами исследовали возрастную экспрессию катепсинов K, S и V в коже человека, их влияние *in vitro* на целостность сети эластических волокон, особенности их расщепления и способность высвобождения биоактивных пептидов. В работе Panwar P. с коллегами показано снижение уровня катепсинов K, S и V в стареющей коже с преимущественной эпидермальной экспрессией, на фоне ухудшения структуры волокон из плотной сети более тонких фибрилл до пористой сетки [98]. Масс-спектрометрическое определение сайтов расщепления эластина показало, что все три катепсина расщепляют их преимущественно в гидрофобных доменах. Деградация эластиновых волокон приводила к высвобождению биоактивных пептидов, которые ассоциируются с различными патологиями. Таким образом, катепсины являются мощными расщепляющими эластин ферментами, способными генерировать множество эластокинов. Следовательно, они могут представлять собой мишень для стратегий вмешатель-

ства, направленных на замедление старения соединительной ткани [98].

Клеточное старение представляет собой сложную реакцию, вызывающую практически необратимую остановку клеточной пролиферации и развитие многокомпонентного секреторного фенотипа, ассоциированного со старением (SASP). SASP недавно стал объектом интенсивного изучения и многообещающей терапевтической мишенью для множества возрастных состояний, от нейродегенеративных заболеваний до рака. SASP состоит из множества цитокинов, хемокинов (CXCL), факторов роста и протеаз, которые инициируют воспаление, заживление ран и реакции роста в близлежащих клетках. В молодых здоровых тканях проявления SASP, как правило, носят транзиторный характер и способствуют сохранению или восстановлению тканевого гомеостаза, то есть являются адаптивными. Тем не менее, стареющие клетки увеличиваются с возрастом, и известно или предполагается, что хронически поддерживаемый SASP является ключевым фактором многих патологических признаков старения, включая хроническое воспаление, онкогенез и нарушение обновления стволовых клеток. Данные нескольких лабораторий убедительно подтверждают гипотезу, что стареющие клетки и появление SASP вызывают множественные возрастные фенотипы и патологии, включая атеросклероз, остеоартрит, дисфункции ССС и почек, а также снижение продолжительности жизни. Недавно было показано, что стареющие клетки секретируют в кровь биологически активные вещества, которые изменяют гемостаз и способствуют свертыванию крови. Следовательно, можно считать, что компоненты SASP обладают потенциалом в качестве биомаркеров плазмы для старения и связанных с возрастом заболеваний, которые отмечены наличием стареющих клеток [117].

Известно, что физические упражнения способствуют здоровому старению и смягчают возрастные патологии. Однако молекулярные основы этого явления остаются в значительной степени неясными. Недавние данные свидетельствуют о том, что упражнения способны модулировать протеом. Точно так же считается, что ограничение калорийности рациона (ОК), известный стимулятор продолжительности жизни, увеличивает качество внутриклеточного белка. Известно, что аутофагическая активность снижается с возрастом, а ингибирование рапамицинового комплекса 1 (TORC1) увеличивает продолжительность жизни. Ингибирование TORC1 может снизить выработку клеточных белков, наблюдаемое при старении. TORC1 также может проявлять свои эффекты за-

висимым от аутофагии образом. Упражнения и ограничение калорийности приводят к одновременному снижению активности TORC1 и усилению аутофагии в ряде тканей. Более того, TORC1, индуцированный физической нагрузкой, и передача сигналов аутофагии имеют общие пути с ОК. Таким образом, эффект долголетия при использовании в качестве профилактической меры физических упражнений и ОК может быть связан с поддержанием протеома за счет балансировки синтеза и рециркуляции внутриклеточных белков и, таким образом, может представлять собой практическую рекомендацию для увеличения продолжительности жизни [27].

Проспективное исследование, выполненное в университете Уппсалы (Швеция) с целью исследования связи между возрастным изменением рСКФ и повышением уровня белков в плазме принимало участие 1016 человек в возрасте 70–80 лет. Измерение скорости клубочковой фильтрации (рСКФ), уровня гемоглобина и концентрации 84 белков методом протеомики, показало, что в течение 10-летнего наблюдения шестьдесят один из 84 белков достоверно увеличился. Показатели рСКФ были обратно пропорциональны изменениям уровней 74% белков. Изменение концентрации гемоглобина было достоверно связано с параметрами 40% оцениваемых белков. Повышение уровня белков в плазме крови с возрастом, как полагают авторы, было связано со степенью снижения рСКФ для большинства белков, при этом четкой связи между концентрациями белков и изменением уровня гемоглобина не наблюдалось [72].

Исследование зависимости протеома от возраста человека выполнялось на образцах как крови, так и мочи человека. Пастушковой Л.Х. с соавторами анализировались образцы мочи 32 добровольцев-мужчин, при этом группа была равномерно разделена на подгруппы: 20–30, 30–40, 40–50, 50–60 лет. Состояние здоровья обследованных подтверждалось врачебной экспертной комиссией. Были выявлены достоверные возраст-зависимые изменения протеома мочи ($p < 0.05$): уровень семи белков достоверно снижался (кератин 2, C1-ингибитор белка плазмы, альфа-1 субъединица коллагена VI типа, тирозин-протеинкиназный-рецептор *UFO*, липопротеиновый рецептор-родственный белок 2 низкой плотности, белок молекулы клеточной адгезии 4 и гемисенрин 1), у пяти – увеличивался (альфа-2-*HS*-гликопротеин, кадгерин 1, альфа-цепь фибриногена, везикулярный интегральный мембранный белок VIP36, иммуноглобулин каппа переменной 3–20). Выявлено 177 достоверно различающихся процессов, которые объединены в семь подгрупп с дву-

мя белками-участниками. Так, с возрастом изменяется активность ряда внутриклеточных процессов, характер ответных реакций на стимулы, отмечено изменение внутриклеточного транспорта, адгезии, реакций иммунной системы, “воспалительного ответа”, метаболизма соединительной ткани. Авторы работы делают вывод, что исследования протеома мочи могут быть полезны для решения диагностических задач, необходимых в разработке современных и инновационных методов диагностики, профилактики и лечения состояний, ассоциированных с возрастом [4].

Известно, что с возрастом иммунная система претерпевает множество изменений. Нарушаются как адаптивные, так и врожденные иммунные механизмы, о чем свидетельствуют антиген-независимое снижение клеточной пролиферации и функции, миграции, разнообразия Т-клеточных рецепторов, секреции антител, фагоцитарных способностей, цитотоксичность и широкое нарушение регуляции цитокинов и хемокинов. Показано, что старение выражено влияет на гуморальный иммунитет, так как с возрастом ухудшаются аффинность антител и адаптивные иммунные процессы, которые приводят к их выработке. Кроме того, значительно снижается активность гемопоэза [97], антигенпрезентирующие клетки снижают экспрессию комплекса пептид-МНС-II [8], а эффекторные клетки антител демонстрируют снижение функционального клиренса IgG-связанных патогенов [112].

Хотя давно установлено, что выработка антител у человека изменяется с возрастом, это может привести к повышению ауоиммунной активности, что влияет на широкие показатели качества жизни. Обнаружено, что разнообразие В-клеток от доноров старше 86 лет по сравнению с донорами моложе 54 лет резко снижено, что коррелирует с показателями слабости, выживаемости и дефицита витаминов [38]. Изучение комбинаций воспалительных маркеров (CRP, IL-6, IL1 β , sTNFAR1) прогнозируют риск сердечно-сосудистых заболеваний и смертность от всех причин в долгосрочной перспективе у пожилых людей [130].

Авторы работы [8] были заняты поиском надежного долгосрочного биомаркера гуморального иммунного старения. Используя пептидные микрочипы высокой плотности, они охарактеризовали связывание сывороточных антител с их сайтами в когорте из 1675 доноров. Были обнаружены тысячи пептидов, связывающих антитела в зависимости от возраста. Профили связывания пептидов были объединены в “иммунный возраст” с помощью регрессионной модели машинного обучения, который сильно коррелировал с хроно-

логическим возрастом. Применяя регрессионную модель к другим донорам, исследователи обнаружили, что прогнозируемый иммунный возраст донора устойчив в течение многих лет, что позволяет предположить, что он может быть надежным долгосрочным биомаркером гуморального иммунного старения. Анализ сыворотки доноров с аутоиммунными заболеваниями показал выраженную связь между “ускоренным иммунным старением” и активной фазой аутоиммунного заболевания. Arvey A. с коллегами делают вывод о том, что у пожилых лиц репертуар циркулирующих антител увеличивает связывание с тысячами пептидов, содержащих дисериновые мотивы, что может быть представлено как иммунный возраст [8].

Hirata T. с коллегами [48] занимались выявлением конкретных биомаркеров, способствующих исключительной естественной выживаемости на примере групп долгожителей: 36 сверх-долгожителей в возрасте ≥ 110 лет, 572 полудолгожителей (105–109 лет), 288 долгожителей (100–104 года) и 531 очень старых людей (85–99 лет). Уникальный набор данных показал, что N-концевой натрийуретический пептид про-В-типа (NT-proBNP), интерлейкин-6, цистатин С и холинэстераза связаны со смертностью от всех причин независимо от традиционных сердечно-сосудистых факторов риска и плазменного альбумина. Из них низкие уровни NT-proBNP статистически связаны с преимуществом в выживаемости по сравнению с более чем столетним возрастом. С высокой смертностью в разных возрастных группах связан только низкий уровень альбумина [48].

Moaddel R. с коллегами провели мета-анализ результатов протеомных работ, проведенных на разных биологических материалах: плазма, сыворотка, моча, слюна, образцы тканей с целью идентификации белков, связанных с возрастом. Авторы идентифицировали 232 белка данной категории и выявили метаболические пути, обогащенные данными белками и связанные с биологическим старением как на животных моделях, так и у людей. К ним относятся в первую очередь передача сигналов инсулиноподобного фактора роста (IGF), митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK), индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF1), передача сигналов цитокинов, пути метаболизма Forkhead Box O (FOXO), метаболизм фолиевой кислоты, метаболический путь конечных продуктов гликирования (AGE) и путь метаболизма рецептора AGE (RAGE) [85].

Многочисленными исследованиями показано, что уровни GDF15 повышаются у животных с митохондриальной дисфункцией, у пациентов с митохондриальными заболеваниями и у пожилых

людей, возможно, в ответ на нарушение гомеостаза кальция и чрезмерный окислительный стресс [108, 109].

Транскриптомные изменения

Ученые сталкиваются с четырьмя основными проблемами, когда пытаются более полно понять биологические факторы, влияющие на скорость старения в естественных популяциях. Во-первых, несмотря на значительный прогресс в понимании молекулярных основ старения, всестороннее понимание причинных механизмов, как молекулярных, так и экологических, влияющих на старение, возрастные заболевания и продолжительность жизни отсутствует. Ранние молекулярно-генетические исследования старения были сосредоточены на понимании регуляции активности отдельных генов, которые оказывали значительное влияние на возрастные заболевания и продолжительность жизни. Было обнаружено, что выключение сотен отдельных генов и белков [125] увеличивает продолжительность жизни [44]. Однако в популяционных исследованиях на человеке большинство из этих генов не обнаруживают значительных вариаций, в отличие от эффектов, наблюдаемых у модельных организмов. Следовательно, можно предположить, что они могут не вносить существенного вклада в естественные вариации темпов старения и уровней долголетия.

Второй проблемой при попытке понимания молекулярных механизмов, влияющих на старение и продолжительность жизни является то, что по сравнению с лабораторными модельными организмами люди чрезвычайно генетически разнообразны. У людей, по сравнению с модельными организмами, было обнаружено несколько генов (локус ТОММ40/АРОЕ/АРОС1), оказывающих большое влияние на продолжительность жизни или возрастные заболевания [22]. Так, показано, что наиболее воспроизводимым и значительным фактором, влияющим на продолжительность жизни, является ген АРОЕ, связанный с риском развития болезни Альцгеймера [16].

В-третьих, огромное влияние на процессы старения и связанные с возрастом заболевания может оказывать окружающая среда, но определение специфического воздействия незначительных изменений в окружающей среде, а также взаимодействий между генами и окружающей средой на старение и продолжительность жизни доказать сложно [21].

Тем не менее, с помощью технологий ОМИК активно продолжаются исследования с целью идентификации в крови специфических и воспроиз-

водимых “биомаркеров”, которые могут являться предикторами биологического старения.

Старение представляет собой сложный процесс, который может характеризоваться снижением функциональных и когнитивных функций человека. Этот процесс можно оценить на основе функциональной способности отдельных, жизненно важных органов, а также их сложных взаимодействий друг с другом. Признается, что для того, чтобы полностью понять сложность старения, необходимо исследовать не отдельную ткань или биологический процесс, но его сложное взаимодействие и взаимозависимость с другими биологическими процессами в организме. В экспериментальной работе Srivastava A. с коллегами с помощью секвенирования РНК изучали изменения транскриптома при старении в тканях мозга, в крови, коже и печени у мышей в возрасте 9, 15, 24 и 30 мес. [117]. Удалось идентифицировать гены и процессы, которые по-разному регулировались при старении животных. Было обнаружено, что электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий была одинаково затронута на уровне транскриптома в четырех тканях. Печень оказалась тканью, демонстрирующей наибольшее разнообразие дифференциально экспрессируемых генов с возрастом. Было обнаружено, что Lcn2 (липокалин-2) однотипно регулируется во всех тканях, и его влияние на продолжительность жизни и выживаемость было подтверждено на модельном объекте почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Исследование показало, что молекулярные процессы старения относительно незаметны в своем развитии, и процесс старения каждой ткани зависит от ее специализированной функции и влияния окружающей среды. Следовательно, регуляция экспрессии отдельного гена, ведущая к изменению молекулярного процесса, сама по себе не может быть ключом к пониманию процесса старения всего организма [117].

Одним из важных подходов к пониманию механизмов старения является изучение изменений уровней экспрессии генов в разном возрасте. Во многих независимых исследованиях, основанных на экспериментах с использованием микрочипов или секвенированием РНК, сообщалось об увеличении экспрессии генов ответа на воспаление и стресс наряду с накоплением, с возрастом, убиквитинированных белков [55, 120]. Некоторые специфические гены связаны со старением. По-видимому, “специфическими генами” связанными со старением, являются: члены семейства катепсинов, гены аполипопротеинов, гены, продукты которых участвуют в системе комплемента, члены надсемейства генов преобразователя сигнала и

активатора транскрипции (STAT) и гены рецептора фактора некроза опухоли (TNFR) [95].

Исследование Ni X. соавторами было направлено на изучение взаимосвязи между вариантами гена ABO, уровнями липидов и фенотипом долголетия в когорте 5803 субъектов долголетия (старше 90 лет) и 7026 молодых людей из контрольной группы. Были идентифицированы четыре варианта гена ABO, связанные со здоровым долголетием (rs8176719 C, rs687621 G, rs643434 A и rs505922 C), при этом было обнаружено, что их встречаемость значительно выше у долгожителей, чем в контрольной группе. Анализ генотипа и метаболического фенотипа показал, что долгожители с rs687621 GG, rs643434 AX и rs505922 CX имели достоверную положительную связь с HDL-с, LDL-с, TC, TG и нормальным уровнем ИМТ. Были выдвинуты предположения о двух путях, включающих vWF/ADAMTS13 и маркеры воспаления (sE-селектин/ICAM1), которые совместно регулируют уровни липидов путем гликозилирования и взаимодействия [91].

Метаболомные и липидомные изменения

Отдельной проблемой остается огромная механистическая дистанция между событиями, происходящими в геноме и последующими фенотипами старения. В работе Hoffman J.M. с соавторами рассматривается возможности изучения “эндофенотипов” в контексте старения. Авторы определяют эндофенотипы как различные молекулярные домены, существующие на промежуточных уровнях организации между генотипом и фенотипом. Именно протеомное и метаболомное профилирование может помочь определить основные причинные механизмы, связывающие генотип с фенотипом в процессах старения [50]. В перекрестных исследованиях биомаркеров за последние 5–10 лет были предприняты попытки выявить предикторы возрастных заболеваний. В них были идентифицированы протеомные и метаболомные биомаркеры ишемической болезни сердца [99], сердечной недостаточности и атеросклероза [144], которые были связаны не только с будущими сердечно-сосудистыми событиями, но и с риском смерти от сердечно-сосудистых заболеваний в течение 18-летнего периода наблюдения [81]. Эти сердечно-сосудистые исследования показывают, что обилие дифференциально регулируемых белков воспалительного ответа может быть потенциальными биомаркерами сердечно-сосудистых событий. Наконец, существуют метаболические и протеомные биомаркеры взаимодействий между возрастными заболеваниями. Например, метаболомный анализ выявил значи-

тельно более низкие уровни глицерофосфолипидов у пациентов с сахарным диабетом второго типа (СД2) по сравнению с контрольной группой, причем самые низкие уровни наблюдались у лиц с СД2 и сопутствующим диагнозом сердечно-сосудистых заболеваний [35]. Не только протеомика и метаболомика могут привести к разработке новых прогностических биомаркеров возрастных заболеваний. Так, для оценки рисков в ССС в качестве потенциальных маркеров были предложены низкомолекулярные соединения липопротеинов низкой плотности [51].

Известно, что метаболом представляет собой функциональную конечную точку сложной сети биологических событий, которая включает геномные, эпигеномные, транскриптомные, протеомные факторы и факторы окружающей среды. Понимание того, как метаболом меняется с возрастом, облегчает идентификацию профилей высокого риска конкретных заболеваний. Данной проблеме посвящен ряд работ: влиянию возраста и пола на метаболом [63, 106], в том числе на данных полногеномного генотипирования [20], возраст-зависимые изменения в исследованиях лонгитюдного дизайна [80]. Так, результаты Darst В.Ф. с соавторами показали, что из общего числа 34 протестированных стероидных липидов 29 значительно снижались с возрастом (в том числе 19/22 андрогенных, 5/5 прогестинных, 4/4 прегненолона и 1/3 кортикостероидов), в то время как 11-кетозтиохоланолон глюкуронид, неактивный андрогенный стероид и метаболит кортизола, значительно увеличиваются с возрастом. Более высокие уровни большинства липидов жирных кислот были связаны с возрастом, включая 13/14 длинноцепочечных жирных кислот, 28/34 ацилкарнитинов и 42/78 других жирных кислот, наряду с более высокими уровнями сфинголипидов, как правило, наблюдавшимися у пожилых [20].

Показано, что не только протеом, но и состав липидома плазмы существенно меняется с возрастом [20]. Так, уровни одних фосфолипидов (ФГ) с возрастом увеличиваются, а других снижаются [25]. Также наблюдались гендерные различия в липидоме плазмы [63], и часть из них были связаны с возрастом [135].

Липидомика внесла свой вклад и в изучение патогенеза болезни Альцгеймера (БА) — было показано, что уровни лизофосфатидилхолина (LPC) и фактора активации лизотромбоцитов (PAF) повышаются при старении и связаны с развитием БА [25]. Следовательно, эти показатели крови могут быть одними из наиболее важных видов липидов для мониторинга риска развития БА время старения. Полагают, однако, что у пожилых людей могут быть разные модели изменения уровня

липидов по сравнению с молодыми и людьми среднего возраста [86, 135].

Лонгитюдное исследование биомаркеров здорового долголетия (HABCS, 2008–2017 гг.), выполненное в Китае, было организовано для изучения детерминант здорового старения и причин смертности среди самых пожилых людей, с 6333 участниками, в их числе 1385 долгожителей, 1350 человек старшего возраста, 1294 человека восьмидесятилетнего возраста, 1577 “молодых пожилых” людей (65–79 лет). Авторы показали, что более высокие уровни общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и активности супероксиддисмутазы были связаны с более выраженным снижением когнитивных функций. В то же время более высокий уровень LDL-C был связан с более низким риском смертности от всех причин. Также была обнаружена обратная связь между витамином D в плазме и когнитивными нарушениями в исследованной когорте [78].

В целом оказывается, что у разных организмов обнаруживается значительно больше ассоциаций метаболитов с возрастом по сравнению с дифференциально экспрессируемыми белками. Это предполагает, что изменения в количественных оценках и потоке метаболитов могут быть биологически более важными для фенотипа старения, чем концентрации белка. Расшифровка метаболических путей, которые по-разному регулируются в процессе старения организма, приводит к новым гипотезам о лежащих в их основе биологических процессах, которые могут влиять на старение и продолжительность жизни. Эта биоинформатическая работа привела исследователей к формированию сетевой структуры различных биологических явлений, поскольку все больше данных свидетельствует о том, что перекрестные помехи между различными путями оказывают значительное влияние на старение [52]. Этот подход системной биологии позволяет исследовать гипотезу, что на процесс старения могут фундаментально влиять возрастные изменения самой сетевой структуры. В этом случае следует сосредоточить усилия на изучении изменений в перекрестных помехах между биохимическими блоками “внутреннего хозяйства”, которые играют равную или более важную роль, чем изменения в концентрациях отдельных белков и метаболитов, а также экспрессии генов [24]. Изучение сетевой структуры дает преимущество для понимания полной картины биологических механизмов, влияющих на старение, возрастные заболевания и продолжительность жизни [50]. Немногочисленные пока результаты, полученные в экспериментальных исследованиях данного направле-

ния, показали, что стабильность сети нарушается у старых животных на уровне транскриптома, протеома и метаболома [67]. То есть по мере того, как сети молекулярных взаимодействий у стареющих животных распадаются на мелкие, не сообщающиеся части, процесс клеточного гомеостаза резко нарушается [50].

Таким образом, помимо изучения собственно молекулярных механизмов старения организма человека на системном, тканевом и клеточном уровне, что имеет фундаментальное значение, использование технологий ОМИК дает ценную информацию о существующих контррегуляторных механизмах болезней, связанных со старением, и их возрастной динамике. В поисках биомаркеров иммунного старения (гуморального звена), нарушения когнитивных функций, рисков развития метаболического синдрома и заболеваний ССС одновременно открываются перспективные мишени для разработки новых фармакологических, в том числе – профилактических средств.

Отметим, что регуляция экспрессии отдельного гена, ведущая к изменению молекулярного процесса, сама по себе не может быть ключом к пониманию процесса старения всего организма, в связи с чем ни один лабораторный биомаркер не является специфическим в прогнозировании или диагностике дряхлости. Однако многогранный патогенез этого состояния предполагает, что мультимаркерный подход, которому предшествует предварительная идентификация специфических белков, может быть наиболее многообещающей стратегией в диагностике возрастных изменений, а также для развития методов персонализированной медицины.

Так, с возрастом изменяется активность ряда внутриклеточных процессов, характер ответных реакций на стимулы, отмечено изменение внутриклеточного транспорта, адгезии, реакций иммунной системы, метаболизма соединительной ткани. Стареющие клетки секретируют в кровь биологически активные вещества, которые изменяют гемостаз и способствуют активизации процессов свертывания крови. Компоненты SASP обладают потенциалом в качестве биомаркеров старения и связанных с возрастом заболеваний, которые отмечены увеличением числа стареющих клеток.

Во многих независимых исследованиях сообщалось об обнаружении отдельных “специфических” генов, связанных со старением. По-видимому, этими связанными со старением генами являлись: члены семейства катепсинов, гены аполипипотеинов, гены, продукты которых участвуют в системе комплемента, члены надсемей-

ства генов преобразователя сигнала и активатора транскрипции (STAT) и гены рецептора фактора некроза опухоли (TNFR). Биоинформатические подходы анализа данных протеомики показали, что функциональные пути, обогащенные ассоциированными с возрастом белками, включали процессы свертывания крови, воспалительные пути, процессы, связанные с хемокинами, активностью пептидаз. В соответствии с данными KEGG, наиболее обогащенными путями при увеличении возраста человека оказались: путь витамина B6, биосинтез антибиотиков, регуляция актинового цитоскелета и эндоцитоз. Старению сопутствуют увеличение отложения коллагена, повышается активность процессов деградации внеклеточного матрикса из-за повышенной экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs). Показано, что белки внеклеточного матрикса миокарда, накапливающиеся с возрастом, включают гликопротеины, протеогликаны, гликозаминогликаны, матрицеллюлярные белки и интегрины. Регуляция актинового цитоскелета, включая путь RhoA/Rho-kinase, является важной мишенью в механизме возрастной гипертензии. GDF15 также имел самую сильную положительную корреляцию с возрастом. Выявлено, что наиболее воспроизводимым фактором, влияющим на продолжительность жизни, является ген APOE, связанный с риском развития болезни Альцгеймера. Наиболее значимо измененными является митохондриальная дисфункция и передача сигналов хемокинов, что указывает на то, что аллель/изоформа E2 может играть специфическую роль в аспектах энергетической биоэнергетики и транспорта иммунных продуктов в стареющем мозге.

Мета-анализ результатов протеомных работ, проведенных на образцах разных биологических материалов: плазме, сыворотке крови, моче, слюне, биопсийных образцах тканей с целью идентификации белков, связанных с возрастом показал, что как на животных моделях, так и у людей 232 белка связаны с биологическим старением. К ним относятся в первую очередь передача сигналов инсулиноподобного фактора роста (IGF), митоген-активируемые протеинкиназы (MAPK), индуцируемый гипоксией фактор 1 (HIF1), передача сигналов цитокинов, пути метаболизма Forkhead Box O (FOXO), метаболизм фолиевой кислоты, метаболический путь конечных продуктов гликирования (AGE) и путь метаболизма рецептора AGE (RAGE).

Определенный вклад в изучение возраст-специфических метаболитов вносит липидомика. Так, показано, что с возрастом были связаны более высокие уровни большинства липидов жирных кислот, включая 13/14 длинноцепочечных

жирных кислот, 28/34 ацилкарнитинов и 42/78 других жирных кислот, наряду с более высокими уровнями сфинголипидов, которые, как правило, наблюдаются у пожилых. Были выдвинуты предположения о двух путях, включающих vWF/ADAMTS13 и маркеры воспаления (sE-селектин/ICAM1), которые совместно регулируют уровни липидов путем гликозилирования и взаимовоздействия.

ВЛИЯНИЕ ДИЕТЫ НА ПРОТЕОМ КРОВИ

Известно, что условия окружающей среды, такие как диета и образ жизни, влияют на профиль белков в крови. Появление уникальных биомаркеров в крови, их обмен с тканями – обеспечивает моментальный снимок функционирования и состояния здоровья организма, тканей и органов. Циркулирующие биомаркеры могут находиться в форме белков, малых молекул, гормонов, пептидов или ферментов. Присутствие и уровень этих компонентов крови динамично и подвержено влиянию внутренних и внешних факторов [134].

Необходимый уровень обмена с внешней средой, для поддержания нормальной жизнедеятельности, реализуется в виде белкового, липидного, углеводного, минерального и водного обмена. Протеомика питания, которая определяется как изучение влияния пищевых ингредиентов на регуляцию экспрессии белка, как полагают, дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и улучшает наше понимание механизмов влияния диеты на организм. Так, длительное переизбыточное потребление пищи с высоким содержанием жиров являются основными причинами увеличения частоты встречаемости метаболического синдрома в популяции. Benard O. et al. при анализе протеома печени мышей, получавших нормальную диету по сравнению с таковой с высоким содержанием жиров, выявили, с помощью жидкостной хроматографии-тандемной МС (LC-MS/MS) 965 белков, среди которых 122 были со значительной дифференциальной экспрессией и 54% из них оказались вовлечены в метаболизм липидов [9]. В исследовании Liao C.-C. et al. ткани печени сирийских хомяков показано, что воспалительные маркеры мембраносвязанных белков A3 (ANXA3) и A5 (ANXA5) активируются при высоком содержании жиров в диете [69]. Sleddering M.A. et al. исследовали протеом крови пациентов с ожирением и диабетом 2 типа (СД2), используя MS/MS и мониторинг множественных реакций (MRM), а также iTRAQ (количественное определение белка с контролем качества). Сравнение клинических групп с ожирением и СД2 при низкокалорийной

диете показало, что уровень нескольких белков (фибриноген, транстретин, комплемент С3, апо-липопротеины, особенно аполипопротеин А-IV), различались между группами, что позволяет их квалифицировать как потенциальные биомаркеры состояния при данных патологических состояниях [115].

Использование протеомики при исследовании влияния диеты на функциональное состояние организма не только предоставляет возможность показать потенциальные молекулярные механизмы до-клинических и патологических состояний, но и предложить профилактические меры с оценкой их эффективности. При исследовании влияния особенностей диеты на функции ЦНС, Kanoski S.E. et al. показано, что типичная западная диета (с высоким содержанием жиров и углеводов) нарушает когнитивные функции [56]. В то же время повышение уровня потребления флавоноидов положительно коррелирует со снижением когнитивных нарушений, снижая риск болезни Альцгеймера, и замедляя прогрессирование нейродегенеративных заболеваний [116]. Negurkar P.V. et al. в целях разработки потенциальных стратегий лечения нейровоспаления, связанного с ожирением, исследовали защитные эффекты *Momordica charantia* (горькой дыни) на проницаемость гематоэнцефалического барьера, эффекты стресса и нейровоспалительную экспрессию цитокинов. Показано, что потребление горькой дыни значительно снижает окислительный стресс и экспрессию провоспалительных цитокинов, наряду с улучшением проницаемости гематоэнцефалического барьера [90]. Имеются убедительные доказательства того, что окислительный стресс выраженно поражает системы антиоксидантной защиты, включаясь в патогенез всех типов поражения печени [76]. В связи с этим Lin B.R. et al. изучали влияние экстракта зеленого чая на регуляцию экспрессии белка в экспериментальной модели вирусного гепатита, с признаками воспаления и апоптоза. Методы протеомики для изучения уровней белковых биомаркеров показали, что лечение зеленым чаем вызывало дифференциальные изменения экспрессии 6 цитокинов (CINC-3, CTNF, MCP-1, MIP-3 α , TIMP-1 и TNF- α), а также подавление активности образования активных форм кислорода при усилении механизма антиоксидантной защиты, что привело к защите от апоптоза [70]. Zhu S. et al. использовали МС-анализ, чтобы показать, что экстракт бобов мунг ингибирует секрецию воспалительных цитокинов и хемокинов, которые оказывают защитное действие при сепсисе [143].

Спектр применения методов протеомики на основе масс-спектрометрии достаточно широк. Так, Machado-Fragua M.D. с коллегами [79] оценивали, в течение 13 лет, в когорте пожилых пациентов (с участием 644 лиц в возрасте ≥ 55 лет) взаимосвязь обеспечения витамином К и развитием слабости. Авторы убедительно показали, что исходно низкий уровень витамина К в плазме (использовался матриксный белок Gla (dp-ис-MGP) как маркер статуса витамина К) был связан с большей степенью слабости и риска ее развития у пожилых людей [79].

Протеомика может способствовать пониманию механизмов, связывающих диету с хроническими заболеваниями, вскрывая биологические механизмы, лежащие в основе связи здорового питания с переходом заболеваний в хроническую фазу. Так, предполагается, что здоровая диета уменьшает повреждение сосудов за счет ослабления воспалительных реакций. Framingham Heart Study [59] в обширном популяционном исследовании (6360 человека со средним возрастом 50 лет) изучали взаимосвязь между качеством диеты и уровнем 71 белка крови, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Показано, что тридцать из 71 белка были связаны с качеством диеты ($P < 0.0007$). Анализ GO выявил молекулярные пути, связывающие эти белки с провоспалительной активацией, такими как регуляция гибели клеток и нейровоспалительная реакция ($P < 0.05$). В течение периода наблюдения в 13 лет авторы документировали 512 смертей и 488 случаев развития сердечно-сосудистых заболеваний в данной когорте. Высокие показатели качества диеты были связаны с более низким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний ($P \leq 0.03$) и смертности ($P \leq 0.004$). При этом 4 белка (B2M [бета-2-микроглобулин], GDF15 [фактор дифференциации роста 15], sICAM1 [растворимая молекула межклеточной адгезии 1] и UCMGP [некарбокситированный матриксный Gla-белок]) опосредовали связь между качеством диеты и смертностью от всех причин, а GDF15 ассоциировался с альтернативным индексом здорового питания и с сердечно-сосудистыми заболеваниями [59].

Другие исследования также предоставляют убедительные доказательства того, что протеомный анализ крови и тканей может представить важные данные для выявления молекулярных путей, лежащих в основе влияния питания на профилактику заболеваний [83]. Так, исследование "Нутригеномика и здоровье" в Канаде показало, что диета в западном стиле связана с 25 белками, участвующими в коагуляции и метаболизме липидов среди 54 предполагаемых белков-биомар-

кером сердечно-сосудистых заболеваний [34]. В Швеции протеомное исследование крови двух популяционных когорт выявило 184 циркулирующих белка, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, причем уровень 21 белка модифицировался режимом питания [133]. Эти белки были участниками молекулярных путей регуляции воспаления и метаболизма липидов: отмечена отрицательная корреляция концентраций PAI1 (ингибитора активатора плазминогена 1), MPO (миелопероксидазы), APOB (аполипопротеина B), GDF15 и HPX (гемопексина) с качеством диеты. Высокие показатели качества диеты, отражающие здоровую диету, были связаны с более низким уровнем этих белков. Аналогичные результаты, свидетельствующие об обратной связи между качеством диеты и биомаркерами воспаления, продемонстрированы в работах Fung T.T. et al. и Ahmad S. et al. [6, 31]. Исследование, выполненное в рамках Инициативы по охране здоровья женщин [77], показало, что Growth/differentiation factor 15 (GDF15) может частично объяснить влияние питания на смертность от всех причин.

Биоинформатические подходы в протеомике позволили показать, что существует взаимосвязь между качеством диеты и смертностью, не связанная с развитием сердечно-сосудистых заболеваний [59]. Так, Schurgers L.J. с коллегами изучали посттрансляционные модификации (ПТМ) неактивной формы Matrix Gla protein (MGP), некарбосилированной формы (ucMGP). Оказалось, что частота ПТМ ucMGP зависит от уровня обеспеченности витамином К [111]. Показано, что ucMGP является фактором риска артериальной кальцификации [131], коррелирующим с повышенным риском смертности [49].

Протеомика вкрупне с метаболомными исследованиями позволяет выяснять молекулярные механизмы метаболических расстройств и предлагать уровень определенных циркулирующих молекул в качестве маркеров для диагностики и мониторинга. Известно, что лептин регулирует пути энергетического метаболизма, размножения и контролирует аппетит. Kumag A.A. с коллегами [65] стремились выяснить, существует ли связь между уровнями лептина и уровнями метаболитов энергетического обмена. Метаболомный анализ плазмы 110 здоровых взрослых лиц (возраст 18–40 лет), выполненный с использованием LC-MS/MS, показал, что уровень лептина имеет достоверную связь со значительным числом метаболитов в крови обоих полов: он положительно коррелирует с холилглицином и арахидоновой кислотой, метаболитами, связанными с энергетическим метаболизмом, прегнандиол-3-глюкуронидом, метаболитом метаболизма про-

гестерона; и он отрицательно связан с уровнями природных флeboтронных соединений. Исследование показало, что уровень лептина отражает различные изменения метаболизма у мужчин и женщин служит полезным маркером для выявления ранних изменений в энергетическом и гормональном метаболизме [65].

Большой раздел протеомных приложений относится к проблемам геронтологии. Аминокислоты признаются ключевыми элементами в регуляции процесса старения, который сопровождается прогрессирующей потерей мышечной массы. На здоровье пожилых влияет потребление аминокислот с пищей. В работе Caballero F.F. с коллегами оценивалась предполагаемая связь между доступностью аминокислот в диете и нарушением функции нижних конечностей (ILEF) у пожилых людей [13]. Исследование включало пациентов с ILEF (43 случая) и 85 лиц контрольной группы, соответствующих по возрасту и полу. Концентрации 20 видов аминокислот в плазме были измерены методом LC-MS/MS в исходном уровне и через 2 года. Показано, что более высокие уровни триптофана были связаны со сниженным 2-летним риском развития ILEF, в то время как глутамин и общее количество незаменимых аминокислот были связаны с более высоким риском развития данного нарушения. Авторы считают, что некоторые виды аминокислот могут служить маркерами риска снижения физической функции у пожилых людей, а здоровое питание может снизить избыточный риск ILEF [13].

С целью дальнейшего развития фармакологических методов лечения компонентов метаболического синдрома (МС), которых, по-видимому, в настоящее время недостаточно для контроля развития неблагоприятных последствий МС, исследовался эффект интервального голодания, от рассвета до заката, такой формы голодания, которая практикуется в часы активности человека. Изучение воздействия данного подхода при МС проведено на 14 субъектах в течение 4-х нед., методами протеомики. Антидиабетический и антивозрастной протеомный ответ регистрировался путем активизации ключевых регуляторных белков передачи сигналов инсулина в конце 4-й недели и спустя неделю после него. Данные свидетельствуют о том, что прерывистое голодание от рассвета до заката активно модулирует экспрессию определенных генов и может служить дополнительным лечением МС [84].

Для анализа влияния длительной изоляции на белки мочи, экспрессируемые в эндотелии, выполнено хромато-масс-спектрометрическое исследование белкового состава образцов мочи 6 добровольцев, участников комплексного экспе-

римента с изоляцией в гермообъекте в течение 105 сут. Их жизнедеятельность в гермообъекте протекала при контролируемом, но директивно изменяющемся режиме потребления соли от 6 до 12 г/сут. Использовались современные методы протеомики наряду с различными биоинформационными подходами. Всего в моче идентифицировано 2037 белков. Среди выявленных протеинов определено 164 белка, экспрессируемых преимущественно эндотелиальными клетками сосудов человека. Определена корреляция частоты их выявления с уровнем солепотребления в каждом экспериментальном периоде. Так, частоты выявления бета-амилоида, эндосиалина, белка CD90, N субъединицы тетрамерного фермента лактатдегидрогеназы имели достоверный уровень линейной корреляции с солепотреблением. Следовательно, комплекс факторов длительной изоляции незначительно воздействовал на функциональное состояние эндотелия [3].

Анализ выявил положительную регуляцию белка аполипопротеина A IV (APOA4) в плазме человека после 8-недельного интервального голодания. В дополнение к APOA4, также наблюдались значительные изменения в CLU, APOC2, APOC3 и APOA2, которые связаны либо с метаболизмом липидов, хиломикрон, либо частиц ЛПВП. Особый интерес представляет снижение количества белка APOC3 в плазме при интервальном голодании, поскольку ранее было продемонстрировано снижение липолиза триглицеридов за счет направленного ингибирования липопротеинлипазы (LPL), а также снижение поглощения триглицеридов в ткани, такие как печень [42].

В нескольких исследованиях на животных изучались молекулярные механизмы влияния диеты с высоким содержанием жиров на продолжительность жизни при контроле потребления энергии. В протеомном исследовании Shi D. с коллегами [113], выполненном в образцах крыс и мух, было обнаружено, что по сравнению с обычной диетой, изокалорийная диета с умеренным высоким содержанием жиров (ИHF) значительно продлевает продолжительность жизни за счет снижения профиля свободных жирных кислот (FFA) в сыворотке и многих тканях посредством подавления анаболизма FFA и активизации путей катаболизма. Протеомный анализ у крыс идентифицировал Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-related protein 1 (PPRC1) как ключевой белок, уровень которого повышался почти в 2 раза с помощью ИHF, и только пальмитиновая кислота (PA) отрицательно коррелировала с экспрессией PPRC1. Используя мух со сверхэкспрессией PPRC1, а также в экспериментах *in vitro*, авторы продемонстрировали, что ИHF зна-

чительно снижает PA, что может потенцировать регуляцию PPRC1 через Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG), что приводит к подавлению окислительного стресса и воспаления и увеличению продолжительности жизни [113].

Риск развития стеатоза печени неалкогольного генеза, с избыточным накоплением триглицеридов в печени, путем идентификации метаболитов, которые различаются в плазме пациентов со стеатозом печени по сравнению со здоровыми людьми (контрольная группа), оценивали Zhao M. с соавторами. Авторы стремились, используя метаболомные и протемные методы, исследовать механизмы, с помощью которых определенные маркеры могут способствовать жировому перерождению печени. Показано, что риск развития стеатоза печени связан с уровнем N,N,N-триметил-5-аминовалериановой кислоты (TMAVA), который считается метаболитом кишечных бактерий *Enterococcus faecalis* и *Pseudomonas aeruginosa*, которые метаболизируют триметиллизин в TMAVA; обеспечивая более высокие уровни триметиллизина в плазме пациентов со стеатозом, чем в контрольной группе. При этом TMAVA связывает и ингибирует γ -бутиробетаингидроксилазу, снижая синтез карнитина [141].

Предиабет (ПД) – это бессимптомное, в основном нераспознаваемое состояние, которым страдает более 35% населения в развитых странах. При некоторых формах этого состояния заметную роль играет избыточное потребление углеводов (в первую очередь рафинированного сахара). Помимо других исходов, ПД увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний. В работе [123] изучили влияние диеты, обогащенной фруктозой, на сердечную функцию, протеом и липидом сердечной мышцы у крыс Wistar. Липидомный и протеомный анализы на основе масс-спектрометрии, выполненные в образцах миокарда, показали сложную перестройку, сопровождавшую развитие ПД через 24 недели эксперимента. Модификация липидома происходила с особым акцентом на дефекты ремоделирования кардиолипина. Протеомный анализ показал значительные изменения в 75 сердечных белках в группе питания фруктозой, включая белки, связанные с митохондриями, апоптозом и окислительным стрессом. Результаты работы показывают, что употребление фруктозы вызывает заметные изменения в липидоме сердца, особенно в ремоделировании кардиолипина, что приводит к митохондриальной дисфункции и нарушению сердечной функции (в виде диастолической сердечной дисфункции). Результаты показали, что даже ранние стадии ПД могут нарушать сердечную функцию и

приводить к значительным изменениям в липидоме и протеоме сердца, еще до появления выраженных признаков окислительного стресса и повреждения клеток [90].

Диета, обогащенная полифенолами (в т.ч. из черники, ежевики, малины) способствует выживанию животных и защите сердечно-сосудистой системы от гипертензии, вызванной высоко-солевой диетой. Ежедневное потребление ягод повышало выживаемость чувствительных к соли крыс. Наблюдался профилактический эффект по предотвращению гипертрофии и дисфункции сердца, гипертрофии кардиомиоцитов. Введение в рацион ягод модулировало экспрессию аквапорины-1, канала, участвующего в проницаемости воды в эндотелии. Анализ протеомики тканей левого желудочка привел к идентификации мишеней для метаболитов, включая цистеин и богатый глицином белок 3 (CSRP3) – участвующий в цитоархитектонике миоцитов. В кардиомиоцитах желудочков крыс CSRP3 был подтвержден как мишень метаболита полифенола, полученного из ягод, 4-метилкатехолсульфата, в микромолярных концентрациях, имитирующих физиологические условия циркуляции в плазме человека. Сайленсинг siRNA CSRP3 и предварительная обработка сульфатом 4-метилкатехина, как эпигенетические механизмы подавления экспрессии генов, отменяли развитие гипертрофии кардиомиоцитов и сверхэкспрессию CSRP3, индуцированную фенилэфрином. Исследование четко подтверждает модуляцию CSRP3 с помощью богатой полифенолами ягодной диеты как эффективной кардиозащитной стратегии при сердечной недостаточности, вызванной гипертензией [96].

Все чаще описывается потенциально вредное воздействие диеты с высоким содержанием жиров на репродуктивную функцию у мужчин. Jarvis S. с коллегами изучали эффекты хронической диеты с высоким содержанием жиров (HF) (у мышей, получавших диету с содержанием жира 45% в течение 21 нед.) с изучением протеома тканей семенников. Масс-спектрометрия идентифицировала 102 дифференциально экспрессируемых белка в семенниках мышей в группе, получавшей диету HF, по сравнению с контролем. К ним относились структурные белки, компоненты гематотестикулярного барьера (филамин А, FLNA), протеины, участвующие в реакциях на окислительный стресс (ассоциированный со сперматогенезом белок-20, SPATA-20) и липидный гомеостаз (белок 2, связывающий регуляторный элемент стерола, SREBP2 и аполипопротеин А1, APOA1). Кроме того, был значительно подавлен важный регуляторный белок *paraspeckle component 1*, PSPC-1, который взаимодействует с рецептором андрогенов.

Вестерн-блот и иммунное окрашивание подтвердили специфичность ответа и локализацию экспрессии белков, как в яичках мыши, так и биопсийных образцов человека [54].

Недавние исследования свидетельствуют о том, что не только состав, но и функции ЛПВП могут регулироваться диетой. Grao-Cruces E. с коллегами на основе анализа результатов, представленных в четырех базах данных (PubMed, Scopus, Cochrane library и Web of Science) показали, что средиземноморская диета является защитным фактором против ССЗ, связанным с улучшением качества ЛПВП и предотвращением дисфункции ЛПВП, выраженной в улучшении способности оттока холестерина фракции ЛПВП и снижения ее окисления [39].

Липидомика и протеомика предоставили новые возможности исследователям для изучения эпигенетического контроля гиперлипидемии, как риск-фактора ССЗ, со стороны различных нутриентов. Так, исследование механизмов протективных свойств куркуминоидов у мышей C57BL/6J показало, что через 8 нед. кормления кормом с добавлением куркумы значительно снизились уровни TC, TG и LDL-C в плазме, а также соотношение LDL-C/HDL-C по сравнению с мышами, получавшими диету с высоким содержанием жиров. Протеомный анализ на основе ТМТ показал, что под действием куркуминоидов значительно изменялась экспрессия 24 белков в плазме и 76 белков в печени животных, соответственно. Анализ показал, что в плазме данные белки участвуют в каскадах комплемента и коагуляции, а также в пути метаболизма холестерина, а в печени – в метаболизме арахидоновой кислоты, биосинтезе стероидных гормонов и сигнальном пути PPAR. Таким образом, результаты показали, что куркума предотвращает гиперлипидемию за счет регуляции экспрессии белков в путях метаболизма [132].

К фундаментальным аспектам использования протеомики в физиологии относится работа Kortenoeven M.L.A. с соавторами, выполненная на экспериментальных моделях гиповолемии или гиперкалиемии у мышей. Протеом дистальных извитых канальцев почек (DCT) изучали в образцах почек животных после 4 дней их содержания на диетах, содержащих низкий уровень NaCl (гиповолемическое состояние) или высокий уровень цитрата калия (гиперкалиемическое состояние). Было показано, что в опосредовании дифференциальных ответов DCT на альдостерон участвуют 210 белков, экспрессия которых выражено менялась при гипо-солевой диете и 625 белков после диеты с высоким содержанием K⁺ [60].

Изменение экспрессии белков, отражающееся на протеоме сыворотки при остром и хроническом воздействии диеты с высоким содержанием липидов показано в ряде экспериментальных работ. Так, Gabuza K. В. с коллегами методами протеомики в сочетании с исследованиями межбелковых взаимодействий *in silico* изучали влияние диет с различным уровнем жиров и разной длительностью применения на дифференциально экспрессируемые белки у крыс. Показано, что для нескольких белков наблюдались различия в экспрессии между диетами с различным, но повышенным содержанием жиров, по сравнению с низко-жировым кормом. Аполипопротеин-AIV (APOA4), С-реактивный белок (CRP) и гликопротеин альфа-2-HS (AHSG) демонстрировали дифференциальную экспрессию как через 8, так и через 42 нед., тогда как макроглобулин альфа-1 (AMB1) дифференциально экспрессировался только через 8 нед. [33]. Таким образом, выявление потенциальных биомаркеров и путей, которые способствуют осложнениям, связанным с избыточным потреблением липидов, может помочь как в разработке схем персонализированной профилактики, так и выявить лиц с риском развития заболеваний, связанных с ожирением.

В данной главе обзора представлены результаты исследований, проведенных в последние годы, которые показывают, что нутриенты и биологически активные компоненты пищи прямо или опосредованно воздействуют на геном, транскриптом, протеом и метаболом, формируя, через эпигенетические механизмы, адаптивный фенотип.

Протеомика питания дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и поддержания гомеостатических механизмов. Показано, что типичная западная диета (с высоким содержанием жиров и углеводов) нарушает когнитивные функции, и связана с белками, участвующими в коагуляции и метаболизме липидов, а также с предполагаемыми биомаркерами сердечно-сосудистых заболеваний, а средиземноморская — является защитным фактором против ССЗ, связанным с улучшением качества циркулирующих фракций холестерина (ЛПВП). Предполагается, что здоровая диета уменьшает повреждение сосудов за счет ослабления про-воспалительной активации. Так, куркума предотвращает гиперлипидемию за счет регуляции экспрессии белков в путях метаболизма, потребление горькой дыни значительно снижает окислительный стресс и экспрессию провоспалительных цитокинов, наряду с улучшением проницаемости гематоэнцефалического барьера, лечение зеленым чаем вызывало дифференциальные

изменения экспрессии 6 цитокинов (CINC-3, CTNF, MCP-1, MIP-3 α , TIMP-1 и TNF- α), а также подавление активности образования активных форм кислорода при усилении механизма антиоксидантной защиты, что эффективно в защите от апоптоза. Употребление фруктозы вызывает заметные изменения в липидоме тканей сердца, особенно в ремоделировании кардиолипина. Последнее приводит к митохондриальной дисфункции и, на тактовом уровне, нарушению функции сердца в виде диастолической дисфункции. Введение в рацион ягод модулирует экспрессию аквапорина-1, канала, регулирующего проницаемость воды в полярном эпителии почек и эндотелии сосудов.

Изменение экспрессии белков, отражающееся на протеоме сыворотки крови при остром и хроническом воздействии диеты с высоким содержанием липидов показано в ряде экспериментальных работ. Так, при высоком содержании жиров в диете активируются воспалительные маркеры мембраносвязанных белков A3 (ANXA3) и A5 (ANXA5).

Все чаще отмечается потенциально вредное воздействие диеты с высоким содержанием жиров на репродуктивную функцию у мужчин. Уровень лептина отражает различные изменения метаболизма у мужчин и женщин и служит полезным маркером для выявления ранних изменений в энергетическом и гормональном метаболизме.

Использование протеомики при исследовании влияния диеты на функциональное состояние различных систем организма не только предоставляет возможность показать потенциальные молекулярные механизмы доклинических и патологических состояний, но и предложить профилактические меры, а также методы по оценке их эффективности.

ВЛИЯНИЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Один из важных вопросов в области исследования влияния двигательной активности на организм человека заключается в том, каким образом физические упражнения обеспечивают положительный эффект и гарантируют стабильное поддержание здоровья. Принимая во внимание, что высокоинтенсивные упражнения не соответствуют здоровому образу жизни, многие исследования сосредоточены на изучении упражнений средней интенсивности, в пределах границ указанных в разработанных рекомендациях [37]. При этом большое число работ посвящено исследованию влияния ограничения физической активности, гиподинамии, на организм человека, в частности выявлению связи образа жизни с риском

развития какого-либо заболевания. Известно, что отсутствие физической активности имеет существенные неблагоприятные последствия для человеческого организма. Гиподинамия приводит к увеличению проявлений окислительного стресса, активизации провоспалительных процессов, развитию подкожного и висцерального ожирения, повышению кровяного давления, развитию сахарного диабета 2 типа, ишемической болезни сердца, сердечной недостаточности [30].

В то же время, физическая активность, в том числе структурированные упражнения, приносит значительную пользу для здоровья, включая улучшение когнитивных функций [104], снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [103] и снижение показателей смертности от них [64]. Поэтому регулярные физические упражнения занимают центральное место в рекомендациях по укреплению сердечно-сосудистого и неврологического здоровья [102, 103]. Польза физических упражнений для сердечно-сосудистой системы объясняется улучшением липидного профиля крови, нормализацией артериального давления, повышением чувствительности к инсулину, а также снижением воспалительных реакций, но значительная часть наблюдаемой пользы остается необъяснимой с точки зрения механизмов снижения факторов риска. Исследования сердечно-сосудистой адаптации и ее потенцирования с помощью физических упражнений получили широкое распространение из-за высокой стоимости медицинского обслуживания больных ССЗ и роста числа летальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний в популяции.

Чтобы понять молекулярные механизмы физиологической адаптации, вызванной мышечной деятельностью, исследователи обратились к протеомному анализу, исследуя изменения белкового состава крови и биоптатов мышц при выполнении упражнений. Такой подход оказался важным шагом на пути к пониманию молекулярных механизмов, лежащих в основе модуляции фенотипа через эпигенетическую регуляцию экспрессии генов, а также внутренних и внешних стимулов, вызываемых упражнениями, которые инициируют молекулярную передачу сигналов.

Экспериментальные исследования на лабораторных животных выявили широкий спектр белков, включая функциональные группы метаболических, сократительных, сигнальных и связанных со стрессом белков, которые регулируются упражнениями различной интенсивности [58, 121]. В том числе, эти исследования выявили специфические белки, присущие регуляции сокращения миокарда, а также те, которые повышают устойчивость сердца к стрессу [58, 121]. Показано, что физиче-

ская активность вызывает сложные молекулярные реакции, включая изменения уровней маркеров острого воспаления (например, интерлейкина-6) [29] и метаболических путей (гликолиза и окисления жирных кислот).

В физиологических исследованиях с участием здоровых добровольцев наиболее удобным источником белков для анализа служит плазма крови. Использование, при исследовании белков плазмы, панорамного подхода в протеомике на основе масс-спектрометрии открыло путь к получению новых результатов. Robbins J.M. et al. провели исследование 5000 белков плазмы, используя платформу SOMAscan, основанную на аптамерах, у более чем 650 взрослых лиц, ведущих малоподвижный образ жизни, до и после 20-недельного периода тренировок на выносливость [107]. При анализе взаимосвязи изменившихся после физической нагрузки белков с изменением уровня максимального потребления кислорода (ΔVO_{2max}), который является прямым показателем изменения физической работоспособности человека, выявлено 102 белка. Белки с наиболее сильными ассоциациями с ΔVO_{2max} включали: 5'-нуклеотидазу (NT5E), белок клеточной поверхности, который гидролизует внеклеточные нуклеотиды в проникаемые через мембрану нуклеозиды. Редкий аллельный вариант NT5E ассоциирован с преждевременной кальцификацией артерий, указывая на важную роль белка NT5E в функционировании сосудов [118]; IL-22-связывающий белок (IL22RA2), растворимый рецептор, лиганд которого участвует в гомеостазе инсулина и глюкозы [45]; и фибромодулин (FMOD), секретируемый белок, участвующий в восстановлении тканей и миогенной регуляции посредством взаимодействия с миостатином [68]. Данные результаты могут указать на важных участников ответа организма и предложить гипотезы о молекулярных механизмах действия физических упражнений на организм человека.

Santos-Parker J.R. с коллегами провели исследование протеома плазмы (методом SOMAscan; выявлено 1129 белков) здоровых молодых женщин, ведущих малоподвижный образ жизни или занимающихся аэробными упражнениями, а также здоровых молодых и пожилых мужчин ($n = 47$). Авторами охарактеризовано 10 различных протеомных модулей (паттернов) плазмы, в том числе 5 паттернов, которые предложено считать специфичными для статуса физической нагрузки [110]. Зависимые от физических упражнений протеомные паттерны были связаны с молекулярными путями, участвующими в заживлении ран, регуляции апоптоза, передаче сигналов глюкозы—инсулина и клеточного стресса, а также в реакциях

воспаления/иммунитета. Также была выявлена связь паттернов с физиологическими и клиническими показателями продолжительности жизни, а также диастолического кровяного давления, резистентности к инсулину, максимальной аэробной способности и функции эндотелия сосудов.

При оценке влияния интенсивных упражнений на пептидом плазмы выявлены пептиды, остро реагирующие на упражнения и, в основном, так же быстро реагирующие на их завершение. Среди группы регулируемых пептидов многие были известными гормонами, включая инсулин, глюкагон, грелин, брадикинин, холецистокинин и секретогранины, подтверждающие достоверность метода. Однако, были выявлены и новые пептиды, которых ранее не были известны в контексте участия в ответе на физические нагрузки. Так, Parker B.L. et al. показано увеличение в плазме человека уровня С-концевых пептидов трансгелинов во время физической нагрузки [100]. Эксперименты *in vitro* с использованием синтетических пептидов выявили роль трансгелиновых пептидов в регуляции клеточного цикла, ремоделировании внеклеточного матрикса и миграции клеток.

Contrepolis K. при изучении транскриптома (16000 анализов), протеома (260 нецелевых и 109 целевых белков, которые были выбраны с учетом их значимости для физиологии упражнений, включая метаболические, сердечно-сосудистые и иммунные белки), липидома (710 липидов) и метаболома (728 метаболитов) крови человека, как многоуровневого молекулярного ответа на острую физическую нагрузку показано, что физические нагрузки вызвали обширные изменения в 56.9% анализов, охватывающих все омические слои, что указывает на комплексные изменения на системном уровне [17]. Различные паттерны изменений наблюдались для разных типов молекул; транскрипты мононуклеаров периферической крови (57.6% от общего количества транскриптов) продемонстрировали очень быстрый ответ, достигая максимального/минимального уровня сразу после тренировки и возвращаясь к исходному уровню в течение 60 мин, тогда как белки (1.9% нецелевых, 40.4% целевых), метаболиты (60.7%) и сложные липиды (67.6%) изменялись в течение всех временных точек и их большая часть оставались значительно измененными на 60-й минуте восстановления. Авторами было выделено 4 кластера исследованных параметров. Компоненты 1 кластера увеличились после тренировки и быстро вернулись к исходному уровню, компоненты 2 кластера показали отсроченное увеличение после тренировки, прежде чем вернуться к исходному уровню. Остальные ана-

литы уменьшались в ответ на нагрузку, при этом некоторые возвращались к исходному уровню в течение одного часа (кластер 3), а другие продолжали снижаться в процессе восстановления (кластер 4). Для каждого кластера были созданы корреляционные сети, выявляющие потенциальные регуляторы биологических процессов.

Кластер 1 был обогащен молекулами ($n = 196$), связанными с анаэробным метаболизмом (лактат, пируват и промежуточные продукты цикла трикарбоновых кислот (ТКА)), иммунным ответом (провоспалительные факторы: интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α)), и противовоспалительные: IL-1RA и фактор роста эндотелия сосудов D (VEGF-D), окислительным стрессом (миелопероксидаза), окислением жирных кислот и сложным метаболизмом липидов.

Молекулы в кластере 2 ($n = 148$) демонстрировали отсроченное увеличение после тренировки, и большая часть этих молекул была связана с углеводным обменом, гормонами, включая стероиды и гормоны щитовидной железы, кортикостероиды для восстановления гомеостатического баланса; увеличение факторов свертывания крови и гемостаза (фактор фон Виллебранда (vWF) и дезинтегрин А) и металлопротеаза с повторами 13 мотива тромбоспондина (ADAMTS-13), вероятно, в ответ на напряжение сдвига, вызванное упражнениями на беговой дорожке.

Кластер 3 содержал молекулы ($n = 168$), количество которых уменьшилось в ответ на нагрузку и вернулось к исходному уровню в течение 1 ч. В данном кластере корреляционная сеть имела хабы с центром в двух метаболических гормонах — лептине и грелине, что предполагает их роль в регуляции аппетита с помощью физических упражнений.

Молекулы в кластере 4 ($n = 171$) представляли собой в основном аминокислоты и различные виды триацилглицеролов, отражающих гидролиз с высвобождением жирных кислот, необходимых для производства энергии [17].

Таким образом, в ответ на физическую нагрузку изменяется циркулирующий протеом, липидом, метаболом, транскриптом, что отражает сложную сеть физиологических процессов, поддерживающих гомеостаз, и может дать представление о молекулярных механизмах влияния физической активности на здоровье.

Многие исследователи стремятся изучить не только влияние упражнений, но и их интенсивности на протеом плазмы человека. С помощью протеомного метода на основе аптамеров для исследования 1305 белков плазмы у 12 участников до и после тренировки при двух уровнях интен-

сивности (умеренной и высокой) показано, что протеом плазмы человека реагирует на упражнения в зависимости от их интенсивности. Упражнения средней и высокой интенсивности вызывали разные сигнальные реакции, в которых задействованы белки плазмы и, похоже, что динамика белков плазмы может отражать некоторые положительные и отрицательные эффекты физической нагрузки [40].

Два хорошо известных эффекта физических упражнений включают их способность предотвращать остеопороз [88] и улучшать липидный профиль крови [61]. При упражнениях умеренной интенсивности протеомный анализ плазмы позволил выявить два основных обогащенных пути, которые связаны со стимулированием роста костей и усилением липофагии, которая касается деградации и метаболизма липидов [40]. Также биоинформатический анализ показал наличие высокопредставленных процессов, относящихся к воспалительной реакции, включая хемотаксис нейтрофилов, гранулоцитов и моноцитов и миграцию воспалительных клеток. В целом, протеомные изменения, вызванные физическими упражнениями, согласуются с их клинически наблюдаемыми эффектами, что позволяет предположить, что эти пути могут быть одним из механизмов, посредством которых упражнения умеренной интенсивности при их регулярном использовании как меры профилактики с течением времени могут действовать для проявления своего потенциала воздействия, в данном случае для улучшения здоровья костей и снижения метаболического риска, связанного с гиперлипидемией.

При высокой интенсивности физической нагрузки наиболее представленные процессы были связаны с неврологическими путями, включая Wnt-сигнальный путь и аксоногенез нейронов (коллатеральное разрастание) [40], что согласуется с клиническими наблюдениями, связывающими аэробные упражнения с нейрогенезом и синаптической пластичностью [128]. Показано повышение мозгового нейротрофического фактора (BDNF) при умеренной нагрузке, а при интенсивной физической нагрузке его концентрация возрастает еще на 30% [40]. Аналогичный результат был получен в работе [124], где было выявлено изменение уровня BDNF при острых и регулярных физических упражнениях. Авторами было высказано предположение, что BDNF опосредует улучшение когнитивных функций и повышение настроения, наблюдаемые при физических упражнениях. Эти результаты особенно важны, учитывая растущую распространенность деменции, отсутствие эффективных методов лечения и

связь между малоподвижным образом жизни и потерей памяти [28]. Другие молекулярные пути, обогащенные при выполнении высокоинтенсивных упражнений, включали образование свободных радикалов, про-воспалительную активацию (миграцию моноцитов, продукцию цитокинов Т-клетками) и миграцию гладкомышечных клеток сосудов [40], указывая, что высокоинтенсивные упражнения могут иметь негативный эффект на организм человека.

Prakash R.S. et al. указывают, что физические упражнения, как правило, полезны для всех аспектов здоровья человека, замедляя когнитивное старение и нейродегенерацию [104]. Физическая активность связана с повышенной пластичностью и уменьшением воспаления в гиппокампе [46], однако мало что известно о факторах и механизмах, которые опосредуют эти эффекты. Показано, что плазма крови, собранная у добровольно бегающих мышей и введенная малоподвижным мышам, снижает базальный уровень экспрессии нейровоспалительных генов и экспериментально индуцированное воспаление мозга. Протеомный анализ плазмы выявил согласованное увеличение ингибиторов каскада комплемента, включая кластерин (CLU) [23]. В этом же исследовании показано, что внутривенно введенный CLU связывается с эндотелиальными клетками головного мозга и снижает экспрессию нейровоспалительных генов в мышечной модели острого воспаления головного мозга и экспериментальной модели болезни Альцгеймера. Данные результаты находят подтверждение в исследовании на человеке. У пациентов с когнитивными нарушениями, которые занимались структурированными упражнениями в течение 6 месяцев, уровень CLU в плазме был выше [23]. Эти результаты демонстрируют генерацию физическими упражнениями противовоспалительных факторов, нацеленных на сосуды головного мозга и благотворно влияющих на его структуры. Еще одно исследование механизмов положительного влияния физических упражнений на мозг провели Moon H.Y. et al. С помощью протеомного анализа они показали, что мышечный секреторный фактор, белок катепсин В (CTSB), важный для когнитивных и нейрогенных функций, при аэробной нагрузке определяется в биоптате икроножной мышцы и плазме мышечной. В свою очередь, применение рекомбинантного CTSB усиливало экспрессию нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) и даблкортина (DCX) во взрослых клетках-предшественниках гиппокампа. В подтверждение результатов показано, что *in vivo* у мышей с нокаутом гена CTSB бег не усиливал нейрогенез гиппокампа и функцию пространственной памяти. Интересно, что и

у макак-резусов, и у людей упражнения на беговой дорожке также повышали уровень CTSB в плазме. У людей изменения уровня CTSB коррелировали с физической подготовкой и функцией памяти, зависящей от гиппокампа. В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что CTSB является медиатором воздействия физических упражнений на когнитивные функции [87].

Lind L., Elmstahl S. et al. и другими исследовательскими группами, с использованием методов протеомики, опубликованы результаты исследования молекулярных механизмов развития неблагоприятных последствий гиподинамии. В двух крупных когортах, а именно: “Эпидемиология здоровья” (EpiHealth, 2239 мужчин и женщин) [71] и “Шведская клиническая когорта маммографии” (SMCC, 4320 женщин) [43], были проведены исследования, которые были направлены на изучение роли образа жизни в патогенезе распространенных заболеваний у женщин. В обеих когортах выявлены схожие результаты [62]: так, при гиподинамии идентифицированные биомаркеры указывают на различные атеросклеротические процессы, включая окисление липопротеинов низкой плотности, деградацию белков, адгезию иммунных клеток и их миграцию [119]. Однако при корректировке результатов анализа на процентное содержание жира в организме, только 4 из этих биомаркеров повторялись в обеих когортах (включая белок, связывающий жирные кислоты 4 (FABP4), цистатин В (CSTB), параоксоназа 3 (PON3) и антагонист рецептора интерлейкина-1 (IL1ra)). Связь низкой физической активности с белком FABP4 предполагает сверхэкспрессию FABP4 в адипоцитах и макрофагах, что способствует развитию инсулинорезистентности и атеросклероза [32]. В целом, данные маркеры имеют значимое влияние на функционирование сосудов и их внутреннюю оболочку – эндотелий, который является регуляторным звеном и при этом подвержен различным влияниям со стороны компонентов крови. Именно баланс в регуляторной деятельности эндотелия поддерживает адекватные функции сосудов, но сдвиг баланса в одну или другую сторону чреват развитием дисфункции эндотелия, которая является начальным звеном в цепочке событий нарушения функционирования сердечно-сосудистой системы.

Существуют различные модели, используемые в экспериментах с участием здоровых лиц, симулирующие в том числе и гиподинамию, такие как антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) и “сухая” иммерсия. Если антиортостатическая гипокинезия представляет собой постельный режим с небольшим углом наклона головного конца постели, то “сухая” иммерсия представляет собой

модель полной разгрузки мышц, в том числе опорных, и в этой модели эффекты гиподинамии достигаются быстрее, чем в АНОГ [114]. В доступной литературе имеется небольшое число работ по исследованию эффектов этих моделей на протеом плазмы. При исследовании 21-суточной антиортостатической гипокинезии к концу эксперимента были выявлены достоверные изменения уровня белков, участвующих в регуляции протеолиза, активации комплемента, острой воспалительной реакции, защитной реакции, реакции на стресс, фибринолизе, свертывании крови [57]. В эксперименте с 21-суточной “сухой” иммерсией были выявлены изменения уровней плазминогена, фибронектина, других факторов свертывания и фибринолиза, активация системы комплемента, изменения в коагуляционном каскаде, которые коррелировали с появлением геморрагической пурпуры к концу эксперимента, указывая на нарушение целостности сосудов, на фоне декомпенсированной сердечно-сосудистой системы [101]. При сравнении образцов плазмы крови, полученных от добровольцев, участвующих в 21-суточной антиортостатической гипокинезии и в сухой иммерсии, выявлено девять общих белков (A1BG, A2M, SERPINA1, SERPINA3, SERPING1, SERPINC1, HP, CFB, TF), которые изменили свои уровни в обоих наземных экспериментах. Общие процессы, такие как дегрануляция тромбоцитов, гемостаз, посттрансляционное фосфорилирование белка и процессы метаболизма белка, указывают на вовлеченность данных процессов при разгрузке мышц, характерной для гиподинамии в модельных экспериментах [12].

Таким образом, физическая активность оказывает благотворный эффект на здоровье человека, и этот эффект выявляется на протяжении всей жизни и сохраняется длительное время. Изменения в белках плазмы после умеренных физических упражнений могут использоваться в качестве биомаркеров здоровья, а также могут играть важную роль в повышении работоспособности сердечно-сосудистой системы, потенцировании иммунной компетентности, предотвращении ожирения, снижении риска неврологических расстройств, инсульта, диабета и нарушений обмена веществ. Исследователи по всему миру с помощью технологий ОМИК идентифицируют большое число плазменных белков, метаболитов, липидов и других молекул, которые тем или иным способом связаны с физической нагрузкой, выделяя различные профили, характерные для адаптации к уровню физических нагрузок разной интенсивности, а также выявляют протеомные паттерны недостатка физической нагрузки. Дальнейший анализ этих данных должен дать

важную информацию по источникам этих белков и метаболитов, а также по их функциональному значению.

В целом, как показано, физические упражнения затрагивают все омические слои плазмы, что значительно затрудняет понимание механизмов влияния. Нам еще предстоит научиться “читать” изменения в плазме, чтобы собрать целостную картину модификаций молекулярных путей при действии физических нагрузок. Кроме того, важность работ данного направления подчеркивается тем, что в любом исследовании других интересующих факторов возникает необходимость учитывать уровень двигательной активности, который, по-видимому, вносит огромный вклад в изменения протеомных и метаболомных составляющих крови.

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОТЕОМА

Существуют объективные и до сих пор не преодоленные трудности в интерпретации результатов исследования протеома жидкостей тела человека, в определенной степени сдерживающие широкое использование технологий протеомики в клинической медицине и в нормальной физиологии. Их можно условно разделить на следующие категории. 1. Индивидуальная (“продольная”) вариабельность протеома крови и мочи. 2. Групповая (межиндивидуальная) вариабельность. 3. Аналитическая вариабельность.

Индивидуальная вариабельность

Считается, что индивидуальная (“продольная”, изменчивость у индивидуума во времени) вариабельность белкового состава крови при изучении методами протеомики на основе масс-спектрометрии составляет около 25% [18]. По данным Трифионовой О.П. [5] индивидуальная вариабельность белкового состава крови здоровых добровольцев в контролируемых условиях, исследованная на протяжении 3 недель, составила $22 \pm 13\%$ [5]. Сообщается, что “продольная” вариабельность белкового состава мочи при масс-спектрометрическом исследовании намного выше вариабельности крови и составляет 45%, а по некоторым данным достигает 58% [2, 89]. По нашим результатам, полученным при исследовании здоровых добровольцев в контролируемых условиях потребления основных питательных веществ, жидкости, двигательной активности, состава атмосферы в замкнутом объекте – при разнице между наблюдениями, составляющей всего неделю, численный состав белков в моче может сильно варьировать [66]. При исследовании проб

мочи 30.7% из числа выявляемых прямым профилированием пиков у здорового человека имеют высокую “продольную” вариабельность на протяжении времени обследования в 3 месяца [1]. Продольная вариабельность составляет большую проблему для широкого применения ОМИКсных методов при исследовании не только белков, но также метаболитов и липидов. Исследователи подчеркивают, в этой связи, что очень важно измерять липидные биомаркеры с высокой воспроизводимостью, чтобы избежать необъективности заключений, которые делаются на основе этих результатов. Поэтому исследование межсуточной вариабельности является крайне актуальной задачей. При исследовании межсуточной вариабельности 1000 видов липидов в плазме и эритроцитах (на 42 людях) выявлено, что в плазме вариабельность была достаточно низкой – воспроизводилось хорошо 78% липидов, тогда как в эритроцитах вариабельность была очень высокой – хорошо воспроизводилось всего 37% липидов. Наиболее высокой воспроизводимостью в плазме была для таких классов липидов, как триацилглицерины и эфиры холестерина. Однако в эритроцитах показали лучшую воспроизводимостью церамиды, диацилглицерины, (лизо)фосфатидилэтаноламины и сфингомиелины [75].

Аналитическая вариабельность

Исследование протеома биологических жидкостей тела дает возможность более глубокого понимания нормальной физиологии, а также патофизиологии заболеваний. Протеомные исследования важны для открытия новых биомаркеров в качестве клинических инструментов для диагностики, мониторинга терапии и прогноза развития заболеваний. Плазма является потенциально богатым источником белковых биомаркеров прогрессирования заболевания и ответа на лекарственные средства. Часто, чтобы увеличить количество анализируемых образцов в исследовании, проводятся крупные многоцентровые исследования. Это может увеличить вероятность различий в методах обработки, хранения и подготовки крови к анализу, что приведет к изменению протеомных результатов. Такие меж-лабораторные различия лежат в основе аналитической вариабельности. Несоответствия в сборе и обработке образцов крови могут оказать значительное влияние на уровни метаболитов, пептидов и, к примеру, белковых биомаркеров воспаления в крови. Преаналитические различия, вызванные отличиями в протоколах обработки образцов, создают проблемы для оценки надежности биомаркеров и сопоставимости между результатами исследований

разных лабораторий. Таким образом, контроль качества образцов имеет решающее значение для успешной идентификации и проверки биомаркеров, а также для получения достоверных результатов при исследовании нормальной физиологии и ответа физиологических механизмов на различные воздействия. Поэтому одной из актуальных задач в протеомике является оценка влияния вариаций в методах обработки крови на результаты протеомного анализа плазмы с использованием ЖХ-МС/МС. В работе Halvey P. et al. [41] изучали влияние различных условий центрифугирования, продолжительности задержки до первого центрифугирования, температуры хранения и типа антикоагулянта на результаты масс-спектрометрического анализа. Результаты анализа крови здоровых доноров не продемонстрировали значительного влияния условий центрифугирования на изменение протеома плазмы. Задержка до первого центрифугирования оказала большее влияние на изменчивость, в то время как температура хранения и антикоагулянт показали менее выраженные, но все же значительные эффекты. Таким образом, авторами показано, что вариабельность процедур обработки крови (на до-аналитическом этапе) вносит значительный вклад в изменчивость результатов исследования протеома плазмы, что может приводить к повышению уровня внутриклеточных белков в плазме в результате гемолиза и разрушения других клеток крови. Учет этих эффектов может быть важен как на этапе планирования исследования, так и на этапах анализа данных. Это понимание будет полезно при планировании работ по поиску белковых биомаркеров в будущем. Более подробное исследование влияния различных преаналитических методов проведено в работе [19]. Цельная кровь, полученная от 16 практически здоровых людей, была собрана в шесть пробирок с ЭДТА и обработана в шести разных преаналитических условиях, включая хранение крови до центрифугирования при 0°C или при комнатной температуре (RT) в течение 6 часов (B6h0C или B6hRT), хранение плазмы при 4°C или RT в течение 24 ч (P24h4C или P24hRT), маленькое число оборотов при центрифугировании во время отделения плазмы 1300 g (Low × g) и немедленная обработка в плазму при 2500 g (контроль) с последующим хранением плазмы при -80°C. Протеомный анализ на основе аптамеров был проведен для выявления значительно измененных белков (кратность изменения ≥ 1.2 , $P < 0.05$) по сравнению с контролем из общего количества проанализированных 1305 белков. Предварительно аналитические условия Low × g и B6h0C привели к наибольшим изменениям протеома плазмы со значительными из-

менениями 200 и 148 белков соответственно. Только 36 белков были изменены при B6hRT. Условия P24h4C и P24hRT приводили к замене 28 и 75 белков соответственно. Систему компонента активировали *in vitro* в условиях B6hRT, P24h4C и P24hRT. Результаты показывают, что для клинического измерения конкретных биомаркеров следует контролировать определенные преаналитические переменные, если по каким-либо причинам невозможно контролировать их все. Аналогичный анализ влияния нескольких условий преаналитической обработки, включая различное время и температуру хранения образцов крови или плазмы и различные скорости центрифугирования на уровни метаболитов, пептидов и биомаркеров воспаления в образцах плазмы человека проведен в исследовании [14]. Было обнаружено, что температура является основным фактором изменчивости результатов определения метаболитов, а время и температура были идентифицированы как критические факторы изменчивости результатов исследования пептидов. Для биомаркеров воспаления температура играла различную роль в зависимости от типа образца (кровь или плазма). Низкая температура влияла на биомаркеры воспаления в крови, тогда как комнатная температура влияла на биомаркеры воспаления в плазме.

Аналогичное исследование [53] по изучению влияния отсроченного центрифугирования на определяемый уровень белков проведено с использованием плазмы и спинномозговой жидкости (ЦСЖ). Кровь здоровых лиц и больных рассеянным склерозом вместе с ЦСЖ больных с подозрением на неврологические расстройства перед центрифугированием оставляли при комнатной температуре на разное время (кровь: 1, 24, 48, 72 ч; ЦСЖ: 1 и 6 ч). Девяносто один белок, ассоциированный с воспалением, был проанализирован с использованием высокочувствительного мультиплексного иммуноанализа. В спинномозговой жидкости также были исследованы дополнительные метаболические и неврологические маркеры. В результате исследования выявлено, что многие белки, особенно в плазме, имели повышенные уровни в вариантах преаналитической подготовки с более длительными задержками процессинга, вероятно, частично из-за утечки внутриклеточных белков. Уровни каспазы 8, интерлейкина 8, интерлейкина 18, сиртуина 2 и сульфотрансферазы 1A1 увеличивались в 2–10 раз в плазме через 24 ч при комнатной температуре. Точно так же уровни катепсина Н, эктонуклеозидтрифосфатдифосфогидролазы 5 и домена WW, содержащего убиквитинпротеинлигазу E3 2, дифференцировались в ЦСЖ с задержкой процессинга <6 ч. Однако ско-

рость изменений для многих белков была относительно постоянной; поэтому авторы смогли охарактеризовать биомаркеры для выявления различий преаналитического этапа. Эти результаты подчеркивают важность своевременного сбора образцов и необходимость повышения осведомленности исследователей о подверженности белков к изменениям в преаналитическом этапе обработки образцов. Кроме того, предлагаемые биомаркеры могут использоваться в определенных ситуациях для выявления и коррекции преаналитических вариаций в будущих исследованиях.

В целом, артефакты, возникающие в результате различий в преаналитической подготовке образцов плазмы или сыворотки, могут искажать результаты исследований и выделять ложные белки-кандидаты в биомаркеры, которые в последующем пройдут на этапы дорогостоящей валидации и верификации. Исследователи [36] получили глубокие эталонные протеомы эритроцитов, тромбоцитов, плазмы и цельной крови 20 человек (>6000 белков) и сравнили протеомы сыворотки и плазмы. На основе этих результатов была проведена оценка образцов плазмы и определение вероятности того, что предлагаемые биомаркеры являются артефактами, связанными с обработкой образцов. В работе [36] представлен онлайн-ресурс (www.plasmaproteomeprofiling.org) для оценки общей систематической ошибки при подготовке образцов и рекомендации по подготовке образцов, что поможет исследователям избежать получения неверных результатов исследования и приблизит к пониманию процессов, протекающих в организме.

Количественная протеомика позволяет обнаруживать и проводить функциональное исследование преддиагностических биомаркеров на основе крови для раннего выявления различных болезней. Однако основным ограничением протеомных исследований при обнаружении биомаркеров остается техническая вариабельность результатов анализа сложных клинических образцов. Более того, в отличие от других ОМИКсных наук, таких как геномика и транскриптомика, протеомике еще предстоит достичь воспроизводимости и долгосрочной стабильности на единой технологической платформе. В нескольких исследованиях тщательно изучалась вариабельность белков, идентифицированных на разных технологических платформах, в преддиагностических образцах онкологических больных. Так, на десяти образцах плазмы крови, собранных за 2 года до постановки диагноза рака молочной железы, тремя разными методами измерения уровня белков (масс-спектрометрия и технологии на основе антител) выявлено 32 белка со статистиче-

ски значимо ($p < 0.01$) измененными уровнями экспрессии между вышеописанными случаями и контролем (здоровыми людьми), при этом ни один из белков не сохранил статистическую значимость после коррекции ложного обнаружения [140]. Т.е. необходимо учитывать особенности дизайна исследования в ограниченных преддиагностических выборках больных. В более широком плане, необходимо унифицировать технологическую платформу исследования белкового состава образцов, что позволит получать более стабильные и воспроизводимые результаты.

Групповая (межиндивидуальная) вариабельность

Как уже было отмечено, изучение протеома плазмы человека важно для понимания многих биологических процессов. В то же время протеом является мишенью для диагностики и терапии. Поэтому представляет большой интерес понимание взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды для определения конкретных уровней белка у людей. Это даст более глубокое представление о роли генетической архитектуры в индивидуальной изменчивости уровней белков в плазме.

Чтобы выявить взаимосвязь генетических факторов и протеома, было проведено комплексное исследование, объединившее секвенирование всего генома, мультиплексное профилирование белков плазмы и обширное клиническое фенотипирование в продольном двухлетнем исследовании состояния здоровья 101 здорового человека с повторным отбором проб [142]. Были проведены анализы генетических и негенетических ассоциаций, связанных с вариабельностью уровня белков в крови у этих лиц. Анализ показал, что каждый человек имеет уникальный белковый профиль с межиндивидуальными вариациями для 794 белков плазмы. Полногеномное секвенирование выявило 144 независимых варианта генов 107 белков, которые показали сильную связь ($P < 6 \times 10^{-11}$) между генетикой и межиндивидуальной изменчивостью уровня белка. Лонгитюдный анализ также показал, что эти уровни стабильны в течение двухлетнего периода исследования. Таким образом, уровни многих белков в крови взрослых здоровых людей определяются генетикой при рождении, что важно для понимания взаимосвязи между профилями протеома плазмы, биологией и болезнями человека.

Еще один пример изучения межиндивидуальной вариабельности рассмотрен в статье [94], где тиоловые белки плазмы из семейства протеиндисульфидизомеразы (PDI), связанные с окислительно-восстановительным потенциалом, явля-

ются кандидатами-репортерами белковых сигнатур крови, оказывающих влияние на структуру и функции эндотелия. В данной работе исследовали возникновение и физиологическое значение циркулирующего пула PDI у здоровых людей. Выявлена высокая межиндивидуальная вариабельность данного белка, но низкая индивидуальная вариабельность с течением времени и при повторных измерениях. Примечательно, что уровни PDI в плазме могут различать различные сигнатуры протеома плазмы, при этом богатая PDI плазма сопровождается повышенной концентрацией белков, связанных с клеточной дифференцировкой, процессингом белков, функциями домашнего хозяйства и другими, в то время как плазма с низким содержанием PDI дифференциально отображает белки, связанные с коагуляцией, воспалительными реакциями и иммуноактивацией. Функция тромбоцитов была одинаковой у людей с богатой PDI и бедной PDI плазмой. При этом, данные белковые сигнатуры тесно коррелировали с эндотелиальным фенотипом и функциональным ответом клеток эндотелия при культивации с PDI-бедной или PDI-богатой плазмой. Так, плазма с низким содержанием PDI способствовала нарушению адгезии эндотелия к фибронектину, нарушению миграции и уменьшению зоны восстановления раны. Пациенты с сердечно-сосудистыми событиями имели более низкие уровни PDI по сравнению со здоровыми людьми.

Хотя белки плазмы играют важную роль в биологических процессах и являются прямыми мишенями для многих лекарств, генетические факторы, которые контролируют индивидуальные различия в уровнях белков плазмы, изучены недостаточно. При исследовании генетической архитектуры протеома плазмы человека у здоровых доноров крови определено 1927 генетических ассоциаций с 1478 белками [122]. При построении связи генетических факторов с заболеваниями через определенные белки выявлены потенциальные терапевтические мишени, возможности сопоставления существующих лекарств с лечением новых заболеваний и потенциальные проблемы безопасности разрабатываемых лекарств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство исследователей, пришедших к использованию протеомики в науках о жизни, согласны, что обсервационные клиничко-биохимические исследования не помогают определить причинно-следственные связи. С помощью ОМИК-технологий идентифицируют большое число белков, метаболитов, липидов и других мо-

лекул, которые связаны с изучением динамики состава и уровня биомолекул в здоровом организме, а также их изменений в зависимости от диеты, физической нагрузки, увеличения возраста человека. Часть из этих молекул определяет естественную вариабельность уровня белков, липидов и метаболитов как между индивидуумами, так и во времени, а также влияние факторов среды, определяющих макроскопическое окружение организма.

Поэтому основная роль новых данных ОМИК-технологий в том числе — протеомики, заключается в том, что их результаты способствуют генерации гипотез [73]. В обзоре раскрываются вопросы возраст-зависимых изменений состава биологических молекул и метаболитов, влияния двигательной активности и характера диеты на протеом, в основном, биологических жидкостей организма, а также вариабельности их состава у здорового человека. ОМИКи дают ценную информацию о существующих механизмах болезней, связанных со старением, и их возрастной динамике. Протеомика питания, которая определяется как изучение влияния пищевых ингредиентов на регуляцию экспрессии белка, дает новое понимание сложных взаимодействий регуляции синтеза и процессинга белков и улучшает наше понимание механизмов влияния диеты на многие системы организма.

Изменения в белковом составе плазмы крови после умеренных физических нагрузок могут использоваться в качестве биомаркеров *здоровья* (реакции, характерной для здорового организма) в различных возрастных группах.

Адекватный дизайн исследований, постановка цели и выбор биоинформатических инструментов анализа массивов данных, которые исследователь получает в протеомике, метаболомике, липидомике — являются залогом успешного решения задач в физиологии человека. Протеомные и метаболомные исследования помогают построить сети молекулярных взаимодействий, включая меж-белковые и гено-белковые, определить их характер для того, чтобы предложить путь для терапевтических вмешательств и управления медицинскими рисками, связанными со старением человека и сопряженными с возрастом заболеваниями, снижением двигательной активности, метаболическими нарушениями доклинического характера.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа была выполнена в рамках базовой тематики РАН 65.3.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Валеева О.А., Пастушкова Л.Х., Пахарукова Н.А., Доброхотов И.В., Ларина И.М. Вариабельность протеома мочи здорового человека в эксперименте с 105 суточной изоляцией в гермообъекте // Физиол. чел. 2011. Т. 37(3). С. 351–354. <https://doi.org/10.1134/s0362119711030157>
2. Захарова Н.Б., Пастушкова Л.Х., Ларина И.М. и др. Значение протеомного состава мочи при заболеваниях мочевыводящих путей (обзор литературы) // Эксп. клин. уrol. 2017. Т. 1. С. 22–29.
3. Каширина Д.Н., Пастушкова Л.Х., Кононихин А.С. и др. Анализ влияния уровня солепотребления на экспрессируемые в эндотелии белки мочи человека при 105-суточной изоляции // Авиакосм. экол. мед. 2017. Т. 51(4). С. 21–27. <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2017-51-4-21-27>
4. Пастушкова Л.Х., Каширина Д.Н., Гончарова А.Г. и др. Особенности возрастных изменений протеомного состава мочи здоровых лиц (экспериментально-теоретическое исследование) // Усп. геронтол. 2020. Т. 33(4). С. 735–740.
5. Трифонова О.П. Оценка пластичности протеома плазмы крови здорового человека в экстремальных условиях жизнедеятельности: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Институт медико-биологических проблем. 2011.
6. Ahmad S., Moorthy M.V., Demler O.V. et al. Assessment of risk factors and biomarkers associated with risk of cardiovascular disease among women consuming a Mediterranean diet // JAMA Netw. Open. 2018. V. 1. P. e185708. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.5708>
7. Anisimova A.S., Alexandrov A.I., Makarova N.E., Gladyshev V.N., Dmitriev S.E. Protein synthesis and quality control in aging // Aging (Albany NY). 2018. V. 10(12). P. 4269–4288. <https://doi.org/10.18632/aging.101721>
8. Arvey A., Rowe M., Legutki J.B. et al. Age-associated changes in the circulating human antibody repertoire are upregulated in autoimmunity // Immun. Ageing. 2020. V. 17. P. 28. <https://doi.org/10.1186/s12979-020-00193-x>
9. Benard O., Lim J., Apontes P. et al. Impact of high-fat diet on the proteome of mouse liver // J. Nutr. Biochem. 2016. V. 31. P. 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.12.012>
10. Bjelosevic S., Pascovici D., Ping H. et al. Quantitative age-specific variability of plasma proteins in healthy neonates, children and adults // Mol. Cell Proteomics. 2017. V. 16(5). P. 924–935. <https://doi.org/10.1074/mcp.M116.066720>
11. Blanco-Suarez E., Liu T.F., Kopelevich A., Allen N.J. Astrocyte-secreted chordin-like 1 drives synapse maturation and limits plasticity by increasing synaptic GluA2 AMPA receptors // Neuron. 2018. V. 100(5). P. 1116–1132.e13. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.09.043>
12. Brzhozovskiy A.G., Kononikhin A.S., Pastushkova L.Ch. et al. The Effects of spaceflight factors on the human plasma proteome, including both real space missions and ground-based experiments // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20(13). P. 3194. <https://doi.org/10.3390/ijms20133194>
13. Caballero F.F., Struijk E.A., Buño A. et al. Plasma amino acids and risk of impaired lower-extremity function and role of dietary intake: a nested case-control study in older adults // Gerontology. 2020. V. 68(2). P. 181–191. <https://doi.org/10.1159/000516028>
14. Cao Z., Kamlage B., Wagner-Golbs A. et al. An integrated analysis of metabolites, peptides, and inflammation biomarkers for assessment of preanalytical variability of human plasma // J. Proteome Res. 2019. V. 18(6). P. 2411–2421. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00903>
15. Chai Y.L., Hilal S., Chong J.P.C. et al. Growth differentiation factor-15 and white matter hyperintensities in cognitive impairment and dementia // Medicine (Baltimore). 2016. V. 95(33). P. e4566. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000004566>
16. Christensen K., Johnson T.E., Vaupel J.W. The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights // Nat. Rev. Genet. 2006. V. 7. P. 436–448. <https://doi.org/10.1038/nrg1871>
17. Contrepois K., Wu Si, Moneghetti K.J., Hornburg D., Ahadi S. Molecular choreography of acute exercise // Cell. 2020. V. 181(5). P. 1112–1130.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.043>
18. Corzett T.H., Fodor I.K., Choi M.W. et al. Statistical analysis of variation in the human plasma proteome // J. Biomed. Biotech. 2010. V. 2010. P. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2010/258494>
19. Daniels J.R., Cao Z., Maisha M. et al. Stability of the human plasma proteome to pre-analytical variability as assessed by an aptamer-based approach // J. Proteome Res. 2019. V. 18(10). P. 3661–3670. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00320>
20. Darst B.F., Kosciak R.L., Hogan K.J., Johnson S.C., Engelman C.D. Longitudinal plasma metabolomics of aging and sex // Aging. 2019. V. 11(4). P. 1262–1282. <https://doi.org/10.18632/aging.101837>
21. Dato S., Rose G., Crocco P. et al. The genetics of human longevity: an intricacy of genes, environment, culture and microbiome // Mech. Ageing Dev. 2017. V. 165(Pt B). P. 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2017.03.011>
22. de Magalhaes J.P. Why genes extending lifespan in model organisms have not been consistently associated with human longevity and what it means to translation research // Cell Cycle. 2014. V. 13. P. 2671–2673. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.950151>

23. *De Miguel Z., Houry N., Betley M.J. et al.* Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin // *Nature*. 2021. V. 600(7889). P. 494–499.
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-04183-x>
24. *Derous D., Mitchell S.E., Green C.L. et al.* The effects of graded levels of calorie restriction: VII. Topological rearrangement of hypothalamic aging networks // *Aging* (Albany NY). 2016. V. 8(5). P. 917–932.
<https://doi.org/10.18632/aging.100944>
25. *Dorninger F., Moser A.B., Kou J. et al.* Alterations in the plasma levels of specific choline phospholipids in Alzheimer's disease mimic accelerated aging // *J. Alzheimers Dis.* 2018. V. 62(2). P. 841–854.
<https://doi.org/10.3233/jad-171036>
26. *Ennerfelt H.E., Lukens J.R.* The role of innate immunity in Alzheimer's disease // *Immunol. Rev.* 2020. V. 297(1). P. 225–246.
<https://doi.org/10.1111/imr.12896>
27. *Escobar K.A., Cole N.H., Mermier C.M., VanDusseldorp T.A.* Autophagy and aging: Maintaining the proteome through exercise and caloric restriction // *Aging Cell*. 2019. V. 18(1). P. e12876.
<https://doi.org/10.1111/accel.12876>
28. *Fenesi B., Fang H., Kovacevic A. et al.* Physical exercise moderates the relationship of apolipoprotein e (apoe) genotype and dementia risk: a population-based study // *J. Alzheimers Dis.* 2017. V. 56(1). P. 297–303.
<https://doi.org/10.3233/JAD-160424>
29. *Fischer C.P.* Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? // *Exerc. Immunol. Rev.* 2006. V. 12. P. 6–33.
30. *Fletcher G.F., Landolfo C., Niebauer J. et al.* Promoting physical activity and exercise: jacc health promotion series // *JACC* 2018. 2018. V. 72. P. 1622–1639.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.08.2141>
31. *Fung T.T., McCullough M.L., Newby P.K. et al.* Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. V. 82. P. 163–173.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/82.1.163>
32. *Furuhashi M., Saitoh S., Shimamoto K., Miura T.* Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological insights and potent clinical biomarker of metabolic and cardiovascular diseases // *Clin. Med. Insights Cardiol.* 2015. V. 8. P. 23–33.
<https://doi.org/10.4137/CMC.S17067>
33. *Gabuza K.B., Sibuyi N.R.S., Mobo M.P., Madiehe A.M.* Differentially expressed serum proteins from obese Wistar rats as a risk factor for obesity-induced diseases // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 12415.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-69198-2>
34. *García-Bailo B., Brenner D.R., Nielsen D. et al.* Dietary patterns and ethnicity are associated with distinct plasma proteomic groups // *Am. J. Clin. Nutr.* 2012. V. 95. P. 352–361.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.111.022657>
35. *García-Fontana B., Morales-Santana S., Díaz Navarro C. et al.* Metabolomic profile related to cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A pilot study // *Talanta*. 2016. V. 148. P. 135–143.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.10.070>
36. *Geyer P.E., Voytik E., Treit P.V. et al.* Plasma proteome profiling to detect and avoid sample-related biases in biomarker studies // *EMBO Mol. Med.* 2019. V. 11(11). P. e10427.
<https://doi.org/10.15252/emmm.201910427>
37. *Giada F., Biffi A., Agostoni P. et al.* Exercise prescription for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: Part I // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2008. V. 9. P. 529–544.
<https://doi.org/10.2459/JCM.0b013e3282f7ca77>
38. *Gibson K.L., Wu Y.C., Barnett Y. et al.* B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status // *Aging Cell*. 2009. V. 8(1). P. 18–25.
<https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00443.x>
39. *Grao-Cruces E., Varela L.M., Martin M.E., Bermudez B., Montserrat-de la Paz S.* High-density lipoproteins and mediterranean diet: a systematic review // *Nutrients*. 2021. V. 13(3). P. 955.
<https://doi.org/10.3390/nu13030955>
40. *Guseh J.S., Churchill T.W., Yeri A. et al.* An expanded repertoire of intensity-dependent exercise-responsive plasma proteins tied to loci of human disease risk // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 10831.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-67669-0>
41. *Halvey P., Farutin V., Koppes L. et al.* Variable blood processing procedures contribute to plasma proteomic variability // *Clin. Proteomics*. 2021. V. 18(1). P. 5.
<https://doi.org/10.1186/s12014-021-09311-3>
42. *Harney D.J., Hutchison A.T., Hatchwell L. et al.* Proteomic analysis of human plasma during intermittent fasting // *J. Proteome Res.* 2019. V. 18(5). P. 2228–2240.
<https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00090>
43. *Harris H., Håkansson N., Olofsson C. et al.* The Swedish mammography cohort and the cohort of Swedish men: study design and characteristics of two population-based longitudinal cohorts // *OA Epidemiology*. 2013. V. 1(2). P. 16.
44. *Harrison D.E., Strong R., Sharp Z.D. et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice // *Nature*. 2009. V. 460(7253). P. 392–395.
<https://doi.org/10.1038/nature08221>
45. *Hasnain S.Z., Borg D.J., Harcourt B.E. et al.* Glycemic control in diabetes is restored by therapeutic manipulation of cytokines that regulate beta cell stress // *Nat. Med.* 2014. V. 20(12). P. 1417–1426.
<https://doi.org/10.1038/nm.3705>
46. *He X.F., Liu D.X., Zhang Q. et al.* Voluntary exercise promotes glymphatic clearance of amyloid beta and reduces the activation of astrocytes and microglia in aged mice // *Front. Mol. Neurosci.* 2017. V. 10. P. 144.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00144>

47. Heywood W.E., Galimberti D., Bliss E. et al. Identification of novel CSF biomarkers for neurodegeneration and their validation by a high-throughput multiplexed targeted proteomic assay // *Mol. Neurodegener.* 2015. V. 10. P. 64.
<https://doi.org/10.1186/s13024-015-0059-y>
48. Hirata T., Arai Y., Yuasa S. et al. Associations of cardiovascular biomarkers and plasma albumin with exceptional survival to the highest ages // *Nat. Commun.* 2020. V. 11(1). P. 3820.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17636-0>
49. Ho J.E., Lyass A., Courchesne P. et al. Protein biomarkers of cardiovascular disease and mortality in the community // *J. Am. Heart Assoc.* 2018. V. 7. P. e008108.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008108>
50. Hoffman J.M., Lyu Y., Pletcher S.D., Promislow D.E.L. Proteomics and metabolomics in ageing research: from biomarkers to systems biology // *Essays Biochem.* 2017. V. 61(3). P. 379–388.
<https://doi.org/10.1042/EBC20160083>
51. Hoogeveen R.C., Gaubatz J.W., Sun W. et al. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014. V. 34(5). P. 1069–1077.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303284>
52. Houtkooper R.H., Williams R.W., Auwerx J. Metabolic networks of longevity // *Cell.* 2010. V. 142. P. 9–14.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.029>
53. Huang J., Khademi M., Lindhe Ö. et al. Assessing the preanalytical variability of plasma and cerebrospinal fluid processing and its effects on inflammation-related protein biomarkers // *Mol. Cell Proteomics.* 2021. V. 20. P. 100157.
<https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2021.100157>
54. Jarvis S., Gethings L.A., Samanta L. et al. High fat diet causes distinct aberrations in the testicular proteome // *Int. J. Obes. (Lond).* 2020. V. 44(9). P. 1958–1969.
<https://doi.org/10.1038/s41366-020-0595-6>
55. Jonker M.J., Melis J.P.M., Kuiper R.V. et al. Life spanning murine gene expression profiles in relation to chronological and pathological aging in multiple organs // *Aging Cell.* 2013. V. 12. P. 901–909.
<https://doi.org/10.1111/accel.12118>
56. Kanoski S.E., Davidson T.L. Western diet consumption and cognitive impairment: links to hippocampal dysfunction and obesity // *Physiol. Behav.* 2011. V. 103(1). P. 59–68.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
57. Kashirina D.N., Brzhozovskiy A.G., Pastushkova L.K. et al. Semi-quantitative proteomic research of protein plasma profile of volunteers in 21-day head down bed rest // *Front. Physiol.* 2020. V. 11. P. 678.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00678>
58. Kavazis A.N., Alvarez S., Talbert E., Lee Y., Powers S.K. Exercise training induces a cardioprotective phenotype and alterations in cardiac subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondrial proteins // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2009. V. 297. P. H144–H152.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01278.2008>
59. Kim Y., Lu S., Ho J.E. et al. Proteins as mediators of the association between diet quality and incident cardiovascular disease and all-cause mortality: The Framingham Heart Study // *J. Am. Heart Assoc.* 2021. V. 10(18). P. e021245.
<https://doi.org/10.1161/JAHA.121.021245>
60. Kortenoeven M.L.A., Cheng L., Wu Q., Fenton R.A. An in vivo protein landscape of the mouse DCT during high dietary K⁺ or low dietary Na⁺ intake // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2021. V. 320(5). P. F908–F921.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00064.2021>
61. Kraus W.E., Houmard J.A., Duscha B.D. et al. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins // *N. Engl. J. Med.* 2002. V. 347(19). P. 1483–1492.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa020194>
62. Kruger R. Proteomics insights on how physical inactivity can influence cardiovascular health // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019. V. 26(17). P. 1862–1864.
<https://doi.org/10.1177/2047487319872019>
63. Krumsiek J., Mittelstrass K., Do K.T. et al. Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome // *Metabolomics.* 2015. V. 11(6). P. 1815–1833.
<https://doi.org/10.1007/s11306-015-0829-0>
64. Kujala U.M., Kaprio J., Sarna S., Koskenvuo M. Relationship of leisure-time physical activity and mortality: The Finnish twin cohort // *JAMA.* 1998. V. 279(6). P. 440–444.
<https://doi.org/10.1001/jama.279.6.440>
65. Kumar A.A., Satheesh G., Vijayakumar G. et al. Plasma leptin level mirrors metabolome alterations in young adults // *Metabolomics.* 2020. V. 16(8). P. 87.
<https://doi.org/10.1007/s11306-020-01708-9>
66. Larina I.M., Pastushkova L.Kh., Tiys E.S. et al. Permanent proteins in the urine of healthy humans during the mars-500 experiment // *J. Bioinf. and Comput. Biol.* 2015. V. 1(13). P. 1540001.
<https://doi.org/10.1142/s0219720015400016>
67. Laye M.J., Tran V., Jones D.P., Kapahi P., Promislow D.E. The effects of age and dietary restriction on the tissue-specific metabolome of *Drosophila* // *Aging Cell.* 2015. V. 14(5). P. 797–808.
<https://doi.org/10.1111/accel.12358>
68. Lee E.J., Jan A.T., Baig M.H. et al. Fibromodulin: a master regulator of myostatin controlling progression of satellite cells through a myogenic program // *FASEB J.* 2016. V. 30. P. 2708–2719.
<https://doi.org/10.1096/fj.201500133R>
69. Liao C.-C., Lin Y.-L., Kuo C.-F. Effect of high-fat diet on hepatic proteomics of hamsters // *J. Agric. Food Chem.* 2015. V. 63(6). P. 1869–1881.
<https://doi.org/10.1021/jf506118j>
70. Lin B.R., Yu C.J., Chen W.C. et al. Green tea extract supplement reduces D-galactosamine-induced acute liver injury by inhibition of apoptotic and proinflammatory

- tory signaling // *J. Biomed. Sci.* 2009. V. 16(1). P. 35.
<https://doi.org/10.1186/1423-0127-16-35>
71. Lind L., Elmståhl S., Bergman E. et al. EpiHealth: a large population-based cohort study for investigation of gene-lifestyle interactions in the pathogenesis of common diseases // *Eur. J. Epidemiol.* 2013. V. 28(2). P. 189–97.
<https://doi.org/10.1007/s10654-013-9787-x>
 72. Lind L., Sundström J., Larsson A. et al. Longitudinal effects of aging on plasma proteins levels in older adults – associations with kidney function and hemoglobin levels // *PLoS One.* 2019. V. 14(2). P. e0212060.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212060>
 73. Lindbohm J.V., Mars N., Walker K.A. et al. Plasma proteins, cognitive decline, and 20-year risk of dementia in the Whitehall II and Atherosclerosis Risk in Communities studies // *Alzheimers Dement.* 2021. Epub ahead of print.
<https://doi.org/10.1002/alz.12419>
 74. Liu C.W., Bramer L., Webb-Robertson B.J. et al. Temporal profiles of plasma proteome during childhood development // *J. Proteomics.* 2017. V. 152. P. 321–328.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.11.016>
 75. Loef M., von Hegedus J.H., Ghorasaini M. et al. Reproducibility of targeted lipidome analyses (lipidzyer) in plasma and erythrocytes over a 6-week period // *Metabolites.* 2020. V. 11(1). P. 26.
<https://doi.org/10.3390/metabo11010026>
 76. Loguercio C., Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis // *Free Radic. Biol. Med.* 2003. V. 34(1). P. 1–10.
[https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01167-x](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01167-x)
 77. Lu A.T., Quach A., Wilson J.G. et al. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan // *Aging (Albany NY).* 2019. V. 11. P. 303–327.
<https://doi.org/10.18632/aging.101684>
 78. Lv Y., Mao C., Yin Z. et al. Healthy Ageing and Biomarkers Cohort Study (HABCS): a cohort profile // *BMJ Open.* 2019. V. 9(10). P. e026513.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026513>
 79. Machado-Fragua M.D., Hoogendijk E.O., Struijk E.A. et al. High dephospho-uncarboxylated matrix Gla protein concentrations, a plasma biomarker of vitamin K, in relation to frailty: the Longitudinal Aging Study Amsterdam // *Eur. J. Nutr.* 2019. V. 59(3). P. 1243–1251.
<https://doi.org/10.1007/s00394-019-01984-9>
 80. Mäkinen V.P., Ala-Korpela M. Metabolomics of aging requires large-scale longitudinal studies with replication // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016. V. 113. P. E3470.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1607062113>
 81. Melander O., Modrego J., Zamorano-León J.J. et al. New circulating biomarkers for predicting cardiovascular death in healthy population // *J. Cell. Mol. Med.* 2015. V. 19(10). P. 2489–2499.
<https://doi.org/10.1111/jcmm.12652>
 82. Meschiari C.A., Ero O.K., Pan H., Finkel T., Lindsey M.L. The impact of aging on cardiac extracellular matrix // *Geroscience.* 2017. V. 39(1). P. 7–18.
<https://doi.org/10.1007/s11357-017-9959-9>
 83. Micha R., Penhalvo J.L., Cudhea F. et al. Association between dietary factors and mortality from heart disease, stroke, and type 2 diabetes in the United States // *JAMA.* 2017. V. 317. P. 912924.
<https://doi.org/10.1001/jama.2017.0947>
 84. Mindikoglu A.L., Abdulsada M.M., Jain A. et al. Intermittent fasting from dawn to sunset for four consecutive weeks induces anticancer serum proteome response and improves metabolic syndrome // *Sci. Rep.* 2020. V. 10(1). P. 18341.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-73767-w>
 85. Moaddel R., Ubaida-Mohien C., Tanaka T. et al. Proteomics in aging research: A roadmap to clinical, translational research // *Aging Cell.* 2021. V. 20(4). P. e13325.
<https://doi.org/10.1111/acel.13325>
 86. Mohammadzadeh Honarvar N., Zarezadeh M., Molsberry S.A., Ascherio A. Changes in plasma phospholipids and sphingomyelins with aging in men and women: A comprehensive systematic review of longitudinal cohort studies // *Ageing Res. Rev.* 2021. V. 68. P. 101340.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101340>
 87. Moon H.Y., Becke A., Berron D. et al. Running-induced systemic cathepsin B secretion is associated with memory function // *Cell. Metab.* 2016. V. 24(2). P. 332–340.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.025>
 88. Moreira L.D., Oliveira M.L., Lirani-Galvão A.P. et al. Physical exercise and osteoporosis: effects of different types of exercises on bone and physical function of postmenopausal women // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2014. V. 58(5). P. 514–522.
<https://doi.org/10.1590/0004-273000003374>
 89. Nagaraj N., D'Souza R.C., Cox J., Olsen J.V., Mann M. Feasibility of largescale phosphoproteomics with higher energy collisional dissociation fragmentation // *J. Proteome Res.* 2010. V. 12(9). P. 6786–6794.
<https://doi.org/10.1021/pr100637q>
 90. Nerurkar P.V., Johns L.M., Buesa L.M. et al. Momordica charantia (bitter melon) attenuates high-fat diet-associated oxidative stress and neuroinflammation // *J. Neuroinflammation.* 2011. V. 8. P. 64.
<https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-64>
 91. Ni X., Bai C., Nie C. et al. Identification and replication of novel genetic variants of ABO gene to reduce the incidence of diseases and promote longevity by modulating lipid homeostasis // *Aging (Albany NY).* 2021. V. 13(22). P. 24655–24674.
<https://doi.org/10.18632/aging.203700>
 92. Ohara T., Hata J., Tanaka M. et al. Serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 2 as a biomarker for incident dementia: the Hisayama Study // *Ann. Neurol.* 2019. V. 85(1). P. 47–58.
<https://doi.org/10.1002/ana.25385>
 93. Ojo J.O., Reed J.M., Crynen G. et al. APOE genotype dependent molecular abnormalities in the cerebrovasculature of Alzheimer's disease and age-matched non-

- demented brains // *Mol. Brain*. 2021. V. 14(1). P. 110. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00803-9>
94. *Oliveira P.V.S., Garcia-Rosa S., Sachetto A.T.A. et al.* Protein disulfide isomerase plasma levels in healthy humans reveal proteomic signatures involved in contrasting endothelial phenotypes // *Redox Biol*. 2019. V. 22. P. 101142. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2019.101142>
 95. *Orre M., Kamphuis W., Osborn L.M. et al.* Acute isolation and transcriptome characterization of cortical astrocytes and microglia from young and aged mice // *Neurobiol. Aging*. 2014. V. 35. P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.008>
 96. *Oudot C., Gomes A., Nicolas V. et al.* CSRP3 mediates polyphenols-induced cardioprotection in hypertension // *J. Nutr. Biochem*. 2019. V. 66. P. 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.01.001>
 97. *Palmer S., Albergante L., Blackburn C.C., Newman T.J.* Thymic involution and rising disease incidence with age // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2018. V. 115(8). P. 1883–1888. <https://doi.org/10.1073/pnas.1714478115>
 98. *Panwar P., Hedtke T., Heinz A. et al.* Expression of elastolytic cathepsins in human skin and their involvement in age-dependent elastin degradation // *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj*. 2020. V. 1864(5). P. 129544. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129544>
 99. *Park J.Y., Lee S.H., Shin M.J., Hwang G.S.* Alteration in metabolic signature and lipid metabolism in patients with angina pectoris and myocardial infarction // *PLoS One*. 2015. V. 10(8). P. e0135228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135228>
 100. *Parker B.L., Burchfield J.G., Clayton D. et al.* Multiplexed temporal quantification of the exercise-regulated plasma peptidome // *Mol. Cell. Proteomics*. 2017. V. 16(12). P. 2055–2068. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA117.000020>
 101. *Pastushkova L.Ch., Goncharova A.G., Kashirina D.N. et al.* Characteristics of blood proteome changes in hemorrhagic syndrome after head-up tilt test during 21-day Dry Immersion // *Acta Astronautica*. 2021. V. 189. P. 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2021.08.044>
 102. *Petersen R.C., Lopez O., Armstrong M.J. et al.* Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology // *Neurology*. 2018. V. 90(3). P. 126–135. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004826>
 103. *Piercy K.L., Troiano R.P., Ballard R.M. et al.* The physical activity guidelines for Americans // *JAMA*. 2018. V. 320(19). P. 2020–2028. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14854>
 104. *Prakash R.S., Voss M.W., Erickson K.I., Kramer A.F.* Physical activity and cognitive vitality // *Annu. Rev. Psychol*. 2015. V. 66. P. 769–797. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010814-015249>
 105. *Rabaglino M.B., Wakabayashi M., Pearson J.T., Jensen L.J.* Effect of age on the vascular proteome in middle cerebral arteries and mesenteric resistance arteries in mice // *Mech. Ageing Dev*. 2021. V. 200. P. 111594. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111594>
 106. *Rist M.J., Roth A., Frommherz L. et al.* Metabolite patterns predicting sex and age in participants of the Karlsruhe Metabolomics and Nutrition (KarMeN) study // *PLoS One*. 2017. V. 12. P. e0183228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183228>
 107. *Robbins J.M., Peterson B., Schranter D. et al.* Human plasma proteomic profiles indicative of cardiorespiratory fitness // *Nat. Metab*. 2021. V. 3(6). P. 786–797. <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00400-z>
 108. *Rochette L., Zeller M., Cottin Y., Vergely C.* GDF15: an emerging modulator of immunity and a strategy in COVID-19 in association with iron metabolism // *Trends Endocrinol. Metab*. 2021. V. 32(11). P. 875–889. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.08.011>
 109. *Sánchez-Infantes D., Nus M., Navas-Madroñal M. et al.* Oxidative stress and inflammatory markers in abdominal aortic aneurysm // *Antioxidants (Basel)*. 2021. V. 10(4). P. 602. <https://doi.org/10.3390/antiox10040602>
 110. *Santos-Parker J.R., Santos-Parker K.S., McQueen M.B., Martens C.R., Seals D.R.* Habitual aerobic exercise and circulating proteomic patterns in healthy adults: relation to indicators of healthspan // *J. Appl. Physiol*. (1985). 2018. V. 125(5). P. 1646–1659. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00458.2018>
 111. *Schurgers L.J., Uitto J., Reutelingsperger C.P.* Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization // *Trends Mol. Med*. 2013. V. 19. P. 217–226. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.008>
 112. *Shaw A.C., Goldstein D.R., Montgomery R.R.* Age-dependent dysregulation of innate immunity // *Nat. Rev. Immunol*. 2013. V. 13(12). P. 875–887. <https://doi.org/10.1038/nri3547>
 113. *Shi D., Han T., Chu X. et al.* An isocaloric moderately high-fat diet extends lifespan in male rats and *Drosophila* // *Cell. Metab*. 2021. V. 33(3). P. 581–597.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.12.017>
 114. *Shigueva T.A., Kitov V.V., Tomilovskaya E.S., Kozlovskaya I.B.* Characteristics of precise motor control in human under microgravity conditions // *Int. J. Appl. Fund. Res*. 2020. V. 2. P. 34–39. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13005>
 115. *Sleddering M.A., Markvoort A.J., Dharuri H.K. et al.* Proteomic analysis in type 2 diabetes patients before and after a very low calorie diet reveals potential disease state and intervention specific biomarkers // *PLoS One*. 2014. V. 9(11). P. e112835. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112835>
 116. *Spencer J.P.E.* Flavonoids and brain health: multiple effects under-pinned by common mechanisms // *Genes Nutr*. 2009. V. 4(4). P. 243–250. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0136-3>

117. *Srivastava A., Barth E., Ermolaeva M.A. et al.* Tissue-specific gene expression changes are associated with aging in mice // *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2020. V. 18(4). P. 430–442. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2020.12.001>
118. *St Hilaire C., Ziegler S.G., Markello T.C. et al.* NT5E mutations and arterial calcifications // *N. Engl. J. Med.* 2011. V. 364. P. 432–442. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0912923>
119. *Stattin K., Lind L., Elmståhl S. et al.* Physical activity is associated with a large number of cardiovascular-specific proteins: Cross-sectional analyses in two independent cohorts // *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2019. V. 26(17). P. 1865–1873. <https://doi.org/10.1177/2047487319868033>
120. *Stilling R.M., Benito E., Gertig M. et al.* De-regulation of gene expression and alternative splicing affects distinct cellular pathways in the aging hippocampus // *Front. Cell. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 373. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00373>
121. *Sun B., Wang J.H., Lv Y.Y. et al.* Proteomic adaptation to chronic high intensity swimming training in the rat heart // *Comp. Biochem. Physiol. Part D Genomics Proteomics*. 2008. V. 3. P. 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2007.11.001>
122. *Sun B.B., Maranville J.C., Peters J.E. et al.* Genomic atlas of the human plasma proteome // *Nature*. 2018. V. 558(7708). P. 73–79. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0175-2>
123. *Szűcs G., Sója A., Péter M. et al.* Prediabetes induced by fructose-enriched diet influences cardiac lipidome and proteome and leads to deterioration of cardiac function prior to the development of excessive oxidative stress and cell damage // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019. V. 2019. P. 3218275. <https://doi.org/10.1155/2019/3218275>
124. *Szuhany K.L., Bugatti M., Otto M.W.* A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor // *J. Psychiatr. Res.* 2015. V. 60. P. 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2014.10.003>
125. *Tacutu R., Craig T., Budovsky A. et al.* Human Ageing Genomic Resources: integrated databases and tools for the biology and genetics of ageing // *Nucleic Acids Res.* 2013. V. 41(Database issue). P. D1027–33. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1155>
126. *Tanaka T., Biancotto A., Moaddel R. et al.* Plasma proteomic signature of age in healthy humans // *Aging Cell.* 2018. V. 17(5). P. e12799. <https://doi.org/10.1111/acer.12799>
127. *Tebani A., Gummesson A., Zhong W. et al.* Integration of molecular profiles in a longitudinal wellness profiling cohort // *Nat. Commun.* 2020. V. 11(1). P. 4487. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18148-7>
128. *Tharmaratnam T., Civitarese R.A., Tabobondung T., Tabobondung T.A.* Exercise becomes brain: Sustained aerobic exercise enhances hippocampal neurogenesis // *J. Physiol.* 2017. V. 595(1). P. 7–8. <https://doi.org/10.1113/JP272761>
129. *Tynkkynen J., Laatikainen T., Salomaa V. et al.* NT-proBNP and the risk of dementia: a prospective cohort study with 14 years of follow-up // *J. Alzheimers Dis.* 2015. V. 44(3). P. 1007–1013. <https://doi.org/10.3233/JAD-141809>
130. *Varadhan R., Yao W., Matteini A. et al.* Simple biologically informed inflammatory index of two serum cytokines predicts 10 year all-cause mortality in older adults // *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2014. V. 69(2). P. 165–173. <https://doi.org/10.1093/gerona/glt023>
131. *Vermeer C., Drummen N.E.A., Knapen M.H.J., Zandbergen F.J.* Uncarboxylated matrix gla protein as a biomarker in cardiovascular disease: applications for research and for routine diagnostics. In: *Patel VB, Preedy VR, eds. Biomarkers in Cardiovascular Disease. Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*. 1st ed. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2016. P. 267–283. <https://doi.org/10.1007%2F978-94-007-7678-4>
132. *Wang M., Wang R., Li L. et al.* Quantitative proteomics of plasma and liver reveals the mechanism of turmeric in preventing hyperlipidemia in mice // *Food Funct.* 2021. V. 12(21). P. 10484–10499. <https://doi.org/10.1039/d1fo01849c>
133. *Warensjo Lemming E., Byberg L., Stattin K. et al.* Dietary pattern specific protein biomarkers for cardiovascular disease: a cross-sectional study in 2 independent cohorts // *J. Am. Heart Assoc.* 2019. V. 8. P. e011860. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.011860>
134. *Whittaker K., Burgess R., Jones V. et al.* Quantitative proteomic analyses in blood: A window to human health and disease // *J. Leukoc. Biol.* 2019. V. 106(3). P. 759–775. <https://doi.org/10.1002/JLB.MR1118-440R>
135. *Wong M.W.K., Braidyn N., Pickford R. et al.* Plasma lipidome variation during the second half of the human lifespan is associated with age and sex but minimally with BMI // *PLoS One*. 2019. V. 14(3). P. e0214141. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214141>
136. *Xu R., Gong C.X., Duan C.M. et al.* Age-dependent changes in the plasma proteome of healthy adults // *J. Nutr. Health Aging.* 2020. V. 24(8). P. 846–856. <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1392-6>
137. *Yamazaki Y., Zhao N., Caulfield T.R., Liu C.C., Bu G.* Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies // *Nat. Rev. Neurol.* 2019. V. 15. P. 501–518. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0228-7>
138. *Yang A.C., Stevens M.Y., Chen M.B. et al.* Physiological blood-brain transport is impaired with age by a shift in transcytosis // *Nature*. 2020. V. 583(7816). P. 425–430. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2453-z>
139. *Yao F., Hong X., Li S. et al.* Urine-based biomarkers for alzheimer's disease identified through coupling computational and experimental methods // *J. Alzheimers Dis.* 2018. V. 65(2). P. 421–431. <https://doi.org/10.3233/JAD-180261>

140. Yeh C.Y., Adusumilli R., Kullolli M. *et al.* Assessing biological and technological variability in protein levels measured in pre-diagnostic plasma samples of women with breast cancer // *Biomark. Res.* 2017. V. 5. P. 30. <https://doi.org/10.1186/s40364-017-0110-y>
141. Zhao M., Zhao L., Xiong X. *et al.* TMAVA, a metabolite of intestinal microbes, is increased in plasma from patients with liver steatosis, inhibits γ -butyrobetaine hydroxylase, and exacerbates fatty liver in mice // *Gastroenterology.* 2020. V. 158(8). P. 2266–2281.e27. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.033>
142. Zhong W., Gummesson A., Tebani A. *et al.* Whole-genome sequence association analysis of blood proteins in a longitudinal wellness cohort // *Genome Med.* 2020. V. 12(1). P. 53. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00755-0>
143. Zhu S., Li W., Li J. *et al.* It is not just folklore: the aqueous extract of mung bean coat is protective against sepsis // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012. V. 2012. P. 498467. <https://doi.org/10.1155/2012/498467>
144. Zordoky B.N., Sung M.M., Ezekowitz J. *et al.* Metabolic fingerprint of heart failure with preserved ejection fraction // *PLoS One.* 2015. V. 10(5). P. e0124844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124844>

The Contribution of Proteomics and Metabolomics to the Study of Physiological Mechanisms of Adaptation of the Human Body to Life Conditions

I. M. Larina¹, L. Kh. Pastushkova¹, D. N. Kashirina^{1, *}, and M. G. Tyuzhin¹

¹*Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 123007 Russia*

**e-mail: daryakudryavtseva@mail.ru*

Abstract—The rapid development of OMIC technologies has led to the emergence of new tools for studying human physiology – proteomics, metabolomics. Identification, at once, of a huge number of biologically active molecules – proteins, lipids, metabolites, provides information on the composition of biological fluids, the dynamics of its change, molecular interactions and response mechanisms to various influences, which allows us to expand our understanding of the functioning of body systems. At the same time, individual molecules found in the blood can serve as markers for various diseases and premorbid conditions. However, the successful use of biomarkers in the clinic is ensured by the success of studying the dynamics of the composition and level of biomolecules in a healthy body, as well as their changes depending on diet, physical activity, and human age. The review is devoted to the analysis of another important aspect, the variability of the level of proteins, lipids and metabolites both over time and between individuals. Analytical variability adds to the complexity of comparing the results of OMIC studies. The review reveals the issues of age-dependent changes in the proteome and metabolome, the influence of physical activity and the nature of the diet on the proteome, as well as the variability of the biological composition of body fluids in a healthy person. The main contribution of proteomic and metabolomic research, contributing to the identification and analysis of networks of molecular interactions, is currently the generation of hypotheses for fundamental physiology and medicine. In the future, this will serve as a rationale for the development of promising tools and methods for therapeutic interventions and management of medical risks associated with human aging, diseases associated with age, decreased motor activity and metabolic disorders.

Keywords: proteomics, metabolomics, lipidomics, plasma, age, diet, physical activity, variability