

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ФЕРМЕНТЫ ЭПИГЕНЕЗА КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА

О. А. Гомазков¹

Эпигенетическая регуляция рассматривается как динамический механизм, с помощью которого клетки реализуют адаптивные ответы на сигналы внутренней и внешней среды. Метилирование ДНК, как двунаправленный баланс активности гистонацетилирующих и гистондеацетилирующих (HDACs) ферментов, определяет изменения конформации хроматина, играя основную роль в экспрессии “нужных” генов. На базе значительного экспериментального и клинического материала прослежены изменения активности HDACs при нейродегенеративных, ишемических и психических заболеваниях. Акцентируется специфичность патологических процессов, к которой причастны изоформы HDAC, которые корректируются селективными ингибиторами. Формулируется идея фармакологического воздействия на эпигенетические “мишени” для терапии различных форм нейро- и психопатологии. В основе этой концепции — поиск и экспериментальная и клиническая апробация ингибиторов HDACs, являющихся соединениями разных классов.

Ключевые слова: эпигенез; гистондеацетилазы; нейродегенеративная патология; ишемия мозга; психические расстройства; селективные ингибиторы HDAC.

ВВЕДЕНИЕ

Эпигенетическая регуляция нейронов рассматривается как динамический механизм, с помощью которого нейроны реализуют адаптивные ответы на сигналы внутренней и внешней среды. Генная экспрессия регулируется модификациями гистонов и ремоделированием хроматина. Эпигенетические регуляторы — белковые комплексы гистондеацетилаз (HDACs), ДНК-метилтрансфераз (DNMTs), гистонацетилтрансферазы (HAT) и др. — осуществляют метилирование и ацетилирование белков, с помощью которых формируется компактное хранение ДНК в ядрах клеток. За счет влияния этих ферментов встраиваются метильные или ацетильные группы, которые, не меняя содержания генетической информации, влияют на синтез новых молекул, необходимых для реализации адаптационных процессов.

Организация ДНК в виде хроматина позволяет компоновать ее в ограниченном пространстве ядра. Такая структура упорядочивает доступность ДНК для ключевых биологических процессов, таких как транскрипция, репликация и репарация. При большой степени интрануклеарного уплотнения доступ к ДНК осуществляется посредством локальной деконденсации хроматина. Изменения уплотнения хроматина осуществляются как за счет модификаций ДНК, так и связанных с

нею гистоновых белков, которые не влияют, однако, на основную структуру генома. Эти “дисциплинирующие” процессы допускают влияние множества конкретных регуляторов — молекул сигнальных каскадов, благодаря чему через репрессию генов контролируется реализация клеточных функций.

На основании анализа большого информационного материала формулируется положение о том, что эпигенетические процессы и изменения хроматина при старении, ишемической патологии мозга, нейродегенеративных заболеваниях и некоторых формах психических расстройств рассматриваются как исходные механизмы патологии. В этом контексте резонно возникает проблема поиска средств влияния на основные “мишени” — компоненты эпигенеза, которые могли бы представить новый подход фармакотерапии. В основе этой концепции — поиск и экспериментальная и клиническая апробация ингибиторов гистондеацетилазы.

1. Эпигенетические процессы как механизмы адаптации

Среди ферментов, участвующих в трансформации гистонов, наибольшее внимание уделяется гистонацетилтрансферазам (HATs), катализирующим присоединение ацетильной группы к гистонам, и гистондеацетилазам (HDACs), удаляющим ацетильные группы. Еще один фермент этой системы (ДНК-метилтрансфераза) осуществляет метилирование нуклеотидных остатков. Смысловой механизм их взаимодействия состоит в уравнивающем контроле ацетилирования и метилирования гистонов и доступности хроматина

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича”, Москва, 119121, Погодинская, 10/8.



Рис. 1. Соотношение метилирования и деацетилирования гистонов определяет экспрессию генов и “организацию” нейропротекции памяти и когнитивных функций мозга.

для синтеза “нужных” молекул, регулирующих процессы выживания клеток, их дифференцировки и других процессов клеточного гомеостаза, в конечном счете — в реализации основных и высших функций головного мозга (рис. 1).

В контексте данной статьи основное внимание будет уделено гистондеацетилазам и ингибиторам, контролирующим их активность. Гистондеацетилазы (HDACs) катализируют деацетилирование лизиновых остатков N-концевой части гистонов и многих других внутриклеточных белков. Они включают несколько семейств ферментов: I класса — HDAC1, 2, 3, куда входят небольшие белки разнообразной клеточной и тканевой локализации; более крупные гистондеацетилазы класса IIa — HDAC4, 5, 7, 9, обнаруживаемые в мозге, скелетных мышцах, плаценте и сердце с локализацией как в ядре, так и в цитоплазме; гистондеацетилазы класса IIb, куда относится HDAC6 с локализацией в мозге, сердце, печени, почках, поджелудочной железе; NAD⁺-зависимые сиртуины (SIRT1 – 7), локализованные в ядре, цитозоле и митохондриях; наконец, ядерная гистондеацетилаза HDAC11, недавно выделенная как отдельный класс IV.

При рассмотрении IV локализации гистондеацетилаз различных изоформ отмечается преобладающее содержание HDAC2, 3, 4, 5 в гиппокампе; HDAC1, 2, 3, 4, 5, 11 в коре мозга и в миндалине. Эти сведения яв-

ляются важными в проспективной оценке гистондеацетилаз как мишеней при лечении заболеваний мозга.

Нуклеарные сиртуины SIRT1, SIRT6, SIRT7 регулируют активность ключевых транскрипционных факторов метаболических путей. SIRT3, SIRT4, SIRT5 являются митохондриальными белками, контролирующими энергетические процессы в организме. Постулируется значение этих сиртуинов для возрастных изменений в мозге [51, 30]. Таблица суммирует представления о суперсемействе различных групп HDACs и их основных свойствах.

Определена неоднозначная роль гистондеацетилаз в реализации клеточных процессов. Исследования на первичных нейронах показывают, что HDACs участвуют как в процессах выживания, так и гибели клеток. Так, HDAC1 может играть роль протекторного или, напротив, нейротоксического компонента в зависимости от взаимодействия с изоформами HDAC9 или HDAC3 [7]. Сверхэкспрессия HDAC9, представителя класса IIb, влияет на апоптоз в гранулярных клетках; однако при взаимодействии с сигнальной c-jun киназой HDAC9 становится антиапоптотическим фактором [41]. Существенно отметить, что указанные функции гистондеацетилаз сопряжены с участием молекул нейросигналинга. Нейропротекторный эффект HDAC4 в гранулярных нейронах мышей опосредован блокадой активности циклин-зависимой киназы CDK1 [34].

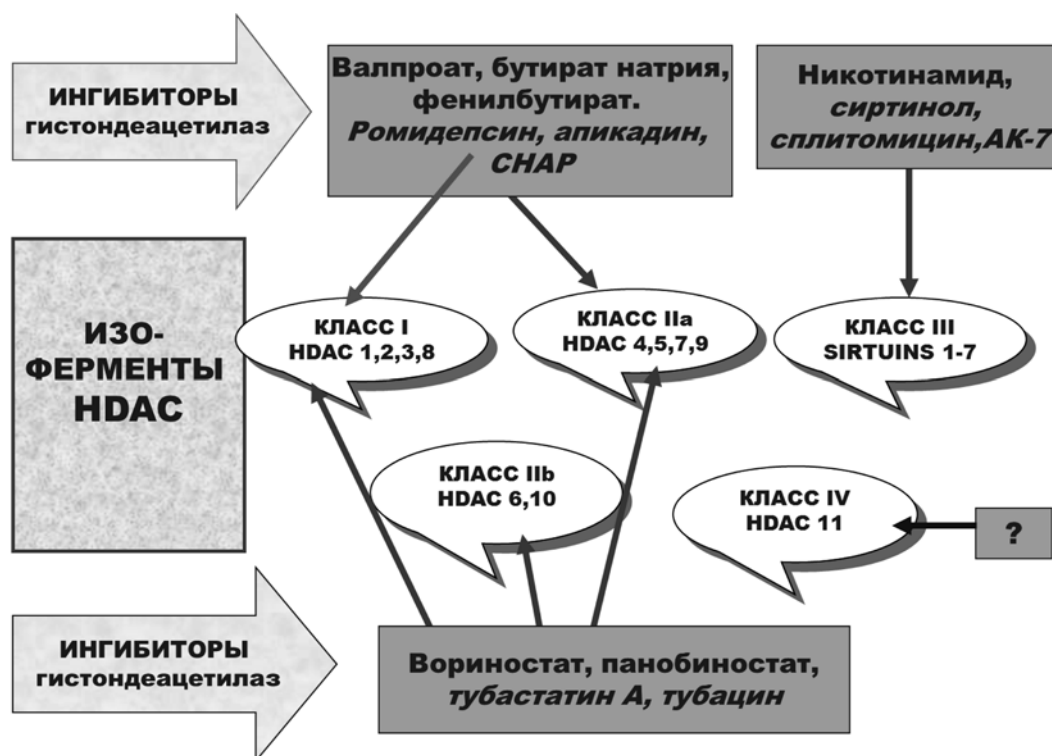


Рис. 2. Различные ингибиторы гистондеацетилаз различного класса и селективности.

(а) Трихостатин А, вориностат, валпроат, бутираты рассматриваются как “пан-ингибиторы” HDACs класса I селективными свойствами обладают ромидепсин, апикадин, СНАР (cyclic hydroxamic acid peptides); (б) тубастатин и тубацин — селективные ингибиторы изоформы HDAC6; (в) установлена селективность сиртинола, сплитомицина и АК-7 как ингибиторов сиртуинов класса III.

Таким образом, наличие в системе эпигенеза значительного числа гистон-модифицирующих ферментов может обеспечить вариабельность биохимических процессов, влияющих на работу генного аппарата. Такое разнообразие мишеней ставит задачу избирательной селективности в коррекции негативных процессов, связанных с формированием заболеваний мозга.

Статус сбалансированного ацетилирования является типичным для “нормальных” нейронов. В системе *in vitro* было установлено, что смещение равновесия с помощью ингибитора HDAC трихостатина А ведет к апоптозу и гибели дофаминовых нейронов [56]. В регуляции функционального соотношения НАТ/HDAC участвует ряд транскрипционных белков, которые составляют часть разветвленной системы интранейрональной сигнализации. Среди этих факторов выделяются цАМФ-связывающий белок CREB, ядерный фактор NF-κB, фактор гипоксического контроля HIF и др.

Ингибиторы деацетилазы гистонов. С 90-х гг. прошлого века стремительно развивается идея терапевтического использования ингибиторов HDACs. По данным базы PubMed число публикаций в рейтинговых журналах по запросу “HDAC + inhibitor” в 1995 г. составляло около 10 в год, однако к 2011 – 2014 гг. эта цифра увеличивается в 100 раз. Применение ингибиторов HDACs рассматривается в качестве новой стра-

тегии противоопухолевой терапии на стадии доклинических испытаний.

Ингибиторы HDAC могут быть разделены на 4 основные химические семейства: 1) короткоцепочечные жирные кислоты (бутират натрия, фенилбутират и вальпроевая кислота); 2) гидроксамовые кислоты: трихостатин А и вориностат — субериоланилид гидроксамовой кислоты (SAHA); 3) эпоксикетоны (трапоксин) и бензамиды. На рис. 2 показана эффективность ингибиторов в отношении определенного класса HDACs. Выявлена селективность некоторых соединений, блокирующих активность отдельных изоформ HDACs (выделены на рисунке курсивом).

В результате тормозящего действия ингибиторов HDACs предотвращается деацетилирование гистоновых белков. При этом ремоделируется структура хроматинового комплекса, и область промотора оказывается более доступной для экспрессии генов. Функциональная сущность этих явлений предполагает увеличение вариабельности регуляторных влияний на активность генного аппарата.

2. Значение эпигенетических факторов для организации механизмов памяти. Влияние ингибиторов HDAC

Вовлечение эпигенетических механизмов в процессы формирования памяти следует рассматривать как финальную часть целостного представления о роли

сигнальных систем мозга в разнообразных комбинациях синаптических, трансдукторных и транскрипционных факторов. Принято считать, что экспрессия рецептора активирует сигнальные реакции, которые при посредстве транскрипционных белков (CREB, NF- κ B и др.) регулируют эпигенетические модификации гистонов. Эти процессы приводят к варибельной активации генов, определяющих механизмы обучения и памяти [4]. Просматривается последовательность событий, связанных с пластичностью синапсов и модификациями гистонов, поддерживаемых экспрессией HDACs. Активация изоформы HDAC2 совпадает с уменьшением числа синапсов, дендритных шипиков и с редуцированной синаптической пластичностью, тогда как SIRT1, напротив, способствует увеличению пластичности и ветвлению дендритов [37]. Исследование ацетилирования гистонов в нейронах гиппокампа на начальных стадиях консолидации долговременной памяти указывает на последовательное включение рецепторов NMDA, киназ трансдукторной системы и увеличенное ацетилирование гистона H3. Ингибирование деацетилирования гистонов трихостатином А или бутиратом натрия стимулировало формирование долговременной синаптической потенциации (LTP), ведущего механизма формирования памяти [29].

Ингибитор HDAC вориностат в экспериментах на крысах увеличивал уровень ацетилированных гистонов, стимулировал активность рецепторов NMDA в

гиппокампе и уровень p-CREB в местах связывания промотора гена NR2B (субъединица глутаматного рецептора). Эти эффекты совпадали с улучшением показателей обстановочного страха, как характеристики памяти [14].

Ингибиторы гистондеацетилаз использовались как фармакологический инструмент при изучении механизмов памяти на модели простых нервных систем. С помощью бутирата натрия на моллюске *Helix* было прослежено формирование пищевого рефлекса, включавшее участие серотониновых рецепторов и метилирование гистона H3. Заблокированная антагонистом серотонина метиотипином память могла быть восстановлена бутиратом натрия, ингибитором HDAC [3]. С помощью вальпроата выявлены гендерные различия в формировании памяти обонятельных рефлексов, связанные с участием гистоновых деацетилаз [1].

Выше были приведены данные об участии различных изоформ HDACs в контроле многообразных клеточных процессов. Это положение обретает еще большую доказательность при рассмотрении участия изоформ HDACs в организации когнитивных функций. Например, отсутствие HDAC2, но не HDAC3, стимулировало процессы обучения и памяти у мышей. Селективный ингибитор HDAC3 — RGFP136 [N-(6-(2-амино-4-фторфениламино)-6-оксогексил)-4-метилбензамид] — или удаление этого фермента приводили к увеличению ацетилирования гистонов, что совпадало

Изоформы гистондеацетилаз (HDACs) мозга: внутриклеточная, региональная локализация и функциональная специфичность

Семейства HDAC	Изоформы HDAC	Внутриклеточная локализация	Региональная локализация в мозге	Функциональная специфичность
I	HDAC1, 2 482, 488 a.k.	ядро	кора, миндалина, гиппокамп	HDAC1: экспрессия в нейронах, астроцитах, олигодендрокитах; участие в их дифференцировке Взаимодействие HDAC1- HDAC3 стимулирует нейротоксические эффекты
	HDAC3 128 a.k.	цитозол	повсеместно	
IIa	HDAC4, 7, 9 1084, 952, 1011 a.k.	ядро цитозол	кора, миндалина, гиппокамп, голубое пятно	HDAC4 и HDAC5 участвуют в деградации протеасом и гибели нейронов HDAC7: нейропротективный эффект при участии трансдукторного белка c-jun. HDAC9: экспрессия в миоцитах и эндотелиоцитах, способствует атеросклерозу сонных артерий
	HDAC5 112 a.k.	ядро цитозол	повсеместно	
IIb	HDAC6 1215 a.k.	цитозол	гиппокамп, голубое пятно	HDAC6: стимулирует миграцию клеток нейробластомы, участвует в агрегации нейрональных белков и аутофагосом, транспорте тубулина в аксонах
III	SIRT 1, 2 747, 380 a.k.	ядро цитозол	кора, гиппокамп, мозжечок, олигодендриты, обонятельные нейроны	SIRT1: дифференцировка и рост нейронов, аксоногенез, контроль синаптической пластичности, когнитивные процессы SIRT3,4,5: контроль метаболических процессов в митохондриях; нивелирование гипероксидов; препятствие возрастным нарушениям SIRT6: поддержание теломеров, репарация ДНК. SIRT7: поддержка устойчивости кардиомиоцитов к стрессу; предупреждение апоптоза и кардиомиопатий
	SIRT 3, 4, 5 400, 314, 310 a.k.	митохондрии	?	
	SIRT 6, 7 355, 400a.k.	ядро	?	
IV	HDAC11 347 a.k.	ядро	повсеместно	HDAC11: экспрессия в постнатальном мозге, поддержка трансформации нейрональных предшественников

с долговременной стимуляцией памяти [35, 40]. При отсутствии изоформы HDAC2 (но не HDAC1) выключалась фиксация пространственной памяти и, напротив, белки семейства III HDACs, способствовали ее консолидации [17]. В результате, соотношение активности только этих из рассматриваемого множества ферментов, влияющих на деацетилирование гистонов, демонстрирует тонкую регулировку синаптической пластичности и памяти. Применение ингибиторов гистондеацетилазы может иметь значение для коррекции деменциальных расстройств возрастного и/или нейродегенеративного характера.

3. Ферменты эпигенеза и нейродегенеративные заболевания

Коррекция ингибиторами

Современные исследования связывают фенотипические черты нейродегенеративных заболеваний различной этиологии (болезни Альцгеймера, Паркинсона, Гентингтона, бокового амиотрофического склероза и др.) с изменениями в системе эпигенетических факторов. Многие данные свидетельствуют о том, что значительная реорганизация эпигенома в мозге происходит как следствие патохимических процессов, основными из которых оказываются: образование токсических амилоидов, дефицит холинергических влияний, формирование нейрофибриллярных отложений, гибель клеток. Основным патофизиологическим итогом этих процессов оказываются когнитивный дефицит и социальная дезадаптация. Обосновывается точка зрения, что эпигенетические модификации играют ключевую роль в деменциальных расстройствах, вызываемых старением, нейродегенеративными осложнениями, постстрессорными и постшемическими состояниями [8]. Однако важно подчеркнуть, что такие эпигенетические нарушения могут быть обратимы и, таким образом, представляют собой реальные мишени фармакологической коррекции.

Болезнь Альцгеймера (БА). Изменения структуры гистонов были выявлены в аутопсийном материале пациентов БА. Установлено снижение уровня ацетилирования гистона H3 и повышенная активность гистондеацетилазы HDAC6 и HDAC2 в височной доле. Эти изменения совпадали с дегенерацией холинергических нейронов, которая, согласно клиническому протоколу, сопровождалась умеренными и тяжелыми когнитивными расстройствами. Таким образом, изменения, констатируемые как нарушения ацетилирования гистонов при БА, ассоциировались с синаптической дисфункцией, нарушением памяти и поведенческих стереотипов [59]. Использование ингибиторов гистондеацетилазы, таких как трихостатин А, субериоиланилид гидроксамовой кислоты, вальпроевая кислота и фенилбутират, продемонстрировало их эффективность на трансгенной модели БА у мышей. Позитивные эффекты ингибиторов включали уменьшение образования β -амилоида, стабилизацию тау-белка и уменьше-

ние фибриллярных отложений. Вальпроевая кислота нивелировала нарушения поведенческих реакций у таких мышей [44].

На модели амилоидной патологии APP/PS1 исследовалось значение уровней ацетилирования гистонов для формирования ассоциативной памяти животных. При стимуляции рефлекса обстановочного страха (fear conditioning) у мышей имело место снижение ацетилирования гистонов H4 в гиппокампе. Применение ингибитора HDAC трихостатина А восстанавливало уровень ацетилирования H4, а также улучшало показатели консолидации памяти до контрольного уровня; одновременно были зафиксированы позитивные изменения долговременной синаптической потенциации [13]. Аналогичные результаты были получены с использованием ингибитора HDAC фенилбутирата, который на модели амилоидной патологии tg2576 предупреждал нарушения синаптической пластичности и памяти как у молодых, так и у возрастных животных [45].

Отдельное положение занимает HDAC6. Данная изоформа представляет особую цитоплазматическую гистондеацетилазу, которая играет роль координатора клеточных реакций при агрегации белков. HDAC6 рассматривается как потенциальный модулятор фосфорилирования и аккумуляции микротубулинового белка тау, который ассоциируется с образованием амилоидных отложений при БА. Экспериментальные исследования с помощью различных ингибиторов HDACs позволили конкретизировать детали патохимических процессов, сопровождающих нейродегенеративное расстройство. Тубацин (tubacin), селективный ингибитор HDAC6, на трансгенной модели БА T231 потенцировал фосфорилирование тау, способствовал стабильности цитоскелета и ограничению образования нейрофибриллярных бляшек [11]. Кроме того, блокада деацетилирующей активности HDAC6 защищает нейроны гиппокампа от $A\beta$ -индуцированного нарушения митохондрий и ухудшения их аксонального транспорта. На трансгенной модели 5XFAD было показано, что трихостатин А способствовал ацетилированию α -тубулина и восстанавливал подвижность митохондрий в системе антероградного и ретроградного транспорта в аксонах [25].

Болезнь Паркинсона. В качестве патохимического механизма болезни Паркинсона рассматривается изменение активности стресс-чувствительной сигнальной протеинкиназы С δ . Ее дефицит сопровождается гибелью дофаминергических нейронов. Белки HDAC6 концентрируются в тельцах Леви и, по-видимому, причастны к агрегации α -синуклеина [24]. В системах *in vitro* и на клеточной модели установлено, что ингибитор HDAC бутират натрия стимулировал экспрессию PKC δ . Иммунопреципитационный анализ хроматина выявил увеличенное ацетилирование гистонов H4 с

нивелированием гибели нигростриатных дофаминовых нейронов [22].

Среди немногих клинических работ этого направления следует упомянуть исследования фенилбутирата натрия на пациентах с боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Гентингтона [10, 19, 50].

Суммируя эти результаты, можно считать, что первичные исследования и, в первую очередь, экспериментальные работы, обосновывают перспективность применения ингибиторов HDAC для коррекции некоторых видов нейродегенеративной патологии. Феноменология таких проявлений — нарушение памяти, деменция, гибель нейронов, расстройство сигнальных путей, гибель клеток определенных регионов мозга — сопряжена с изменениями ацетилирования гистонов и, соответственно, изменением функции генетического аппарата. Применение некоторых ингибиторов HDAC демонстрирует позитивное влияние на эти процессы, что позволяет рассматривать их в качестве возможных лекарственных средств.

4. Феномен нейрогенеза при ишемической патологии мозга. Влияние ингибиторов деацетилирования гистонов

В 90-е гг. прошлого столетия появились экспериментальные работы, в которых утверждалось, что ишемия мозга сопровождается стимуляцией нейрогенеза. Выполненные изначально на модели окклюзии церебральных сосудов, эти исследования иллюстрировали стадии ишемического поражения, его локализацию, а также этапы трансформации стволовых предшественников и интеграцию новых нейронов. Данные экспериментальных работ были подтверждены в клинических наблюдениях на аутопсийном материале. Эти исследования свидетельствуют, что при ишемической патологии мозга из нейрональных клеток — предшественников образуются когорты новых клеток — нейронов, астроцитов, олигодендроцитов. Последовательная трансформация стволовых клеток мозга проходит регулируемые стадии, в результате чего в структуру мозга интегрируются новые нейроны определенного медиаторного фенотипа. Установлено, что такие клетки обнаруживаются в местах повреждения мозга, будучи “доставленными” из гиппокампа или субвентрикулярной зоны, и это обстоятельство расценивается как адаптивная компенсаторная реакция [5]. Иммуноанализ биопсийных образцов установил, что клетки, пограничные ишемическому поражению, экспрессируют маркеры, типичные для новообразованных нейронов. Увеличенное число новых нейронов было обнаружено после ишемического инсульта в мозге 60 – 87-летних пациентов [23, 33].

Анализ публикаций [15], посвященных эффектам ингибиторов гистондеацетилазы при экспериментальной ишемии мозга, выявил доказательства их защитных эффектов. Препараты SAHA, ITF2357, бутират натрия, вальпроевая кислота уменьшали размеры инфарктной зоны и улучшали функциональные (пове-

денческие) параметры животных. Действие ингибиторов HDAC было эффективным как до, так и после окклюзии церебральных артерий. Отмечается также, что антиишемический эффект вальпроевой кислоты сопровождается сохранением гематоэнцефалического барьера и противодействием отеку мозга. Позитивные эффекты ингибиторов HDAC при ишемии мозга связаны с ограничением апоптоза, клеточного воспаления, окислительного стресса, эксайтотоксичности, улучшением церебрального кровотока [48]. Таким образом, вызываемая ингибиторами HDAC коррекция в системе гистонов включает механизмы, стимулирующие в итоге защиту ишемизированного мозга. Имеются данные, что эти ингибиторы способствуют постишемической пролиферации и миграции новых клеток мозга. Применение бутирата натрия в условиях экспериментальной ишемии стимулировала появление трансформирующихся стволовых прогениторов в зонах субвентрикулярной извилины, полосатого тела и фронтальной коры. Одновременно наблюдалось увеличение числа полисиаловых молекул адгезии, транскрипционного белка CREB и нейротрофина BDNF [27]. Вальпроевая кислота, которую применяли в течение 7 дней после воспроизведения ишемического инсульта на крысах (перевязка средней церебральной артерии) улучшала показатели неврологических тестов в течение 3 недель эксперимента. Препарат вызывал экспрессию H4 гистонов в нейробластах и увеличение числа новых олигодендроцитов и аксонов в зоне, пограничной ишемии [32]. Среди молекулярных механизмов, которые сопровождают стимулированный нейрогенез на фоне бутирата натрия и трихостатина А, отмечаются экспрессия васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGF) и подавление активности проапоптической каспазы-3 [26].

Изменение активности ферментов эпигенеза сопряжено с участием нейротрофинов, важных регуляторных посредников. Нейротрофический фактор BDNF поддерживает выживание клеток и стимулирует рост и дифференцировку новых нейронов и синапсов. Вальпроевая кислота при добавлении к нейронам коры мозга стимулировала экспрессию BDNF и VEGF, а также потенцировала ангиогенез и нейрогенез в условиях экспериментального инсульта [32, 55, 58]. Изменения ацетилирования гистонов при церебральной ишемии сопряжены с экспрессией CREB-связывающего белка, важного фактора контроля чувствительности нейронов к повреждающим воздействиям. В этом механизме оказываются задействованными нейропротекторные гены транскрипционных белков HIF-1 и NF-κB [36].

5. Психические заболевания и коррекция эпигенетических механизмов

Изменения ацетилирования гистонов и ремоделирование хроматина ассоциируются с некоторыми формами психической патологии: депрессии, тревожными расстройствами, шизофренией. Логика нейрохимиче-

ских механизмов позволяет считать диссонанс экспрессии ферментов эпигенетического контроля существенной причиной психофизиологического расстройства.

Анализ аутопсийного материала пациентов, погибших при суициде, выявил в клетках префронтальной коры повышенный уровень метилирования в промоторе субъединицы $\alpha 1$ -рецептора ГАМК_A, что совпадало с увеличенной активностью трансферазы DNMT3b. Речь идет, таким образом, о репрограммировании генов и инвертировании ГАМК-ергической передачи в условиях хронического стресса, приводящего к депрессивному расстройству [43].

В модельных исследованиях хронического стресса, вызываемого социальной изоляцией мышей, установлены изменения ацетилирования гистонов H3 в дофаминергических нейронах прилежащего ядра, структуре, определяющей связь префронтальной области и лимбической коры мозга. Инфузия ингибитора гистондеацетилазы MS-275 (энтинонат) и увеличение уровня ацетилирования гистонов приводили к антидепрессивному эффекту, сходному с действием стандартного препарата флуоксетина [9]. У крыс с высоким и низким уровнем реагирования на стресс обнаруживались существенные различия в экспрессии эпигенетических механизмов в нейронах гиппокампа. Социальный стресс вызывал снижение ацетилирования гистонов H3 и 2HВ у крыс с высокой реактивностью, но повышал — у животных с низкой тревожностью [20].

Ингибиторы гистондеацетилазы рассматриваются в качестве потенциальных средств терапии тревожных состояний, фобий и посттравматических когнитивных расстройств, особенно в случаях, резистентных к обычной терапии. Первые рандомизированные исследования, проведенные на людях, подтвердили эффекты ингибиторов HDAC, которые представляют новый подход для лечения больных депрессией [28].

Экспериментальные исследования подтверждают, что блокада деацетилирования гистонов с помощью вориностага, энтиностага, бутирата натрия, трихостатина А, вальпроевой кислоты или путем воздействия на гистонацетилтрансферазу (НАТ) нивелирует проявления страха и негативной памяти [57].

Однако это общее впечатление далеко не однозначно. Недельный курс введения вальпроата натрия мышам линии 129Sv существенно влиял на паттерны эмоционального поведения (но не влиял на когнитивные реакции); при этом у животных усиливались реакции страха [2]. Бутират натрия блокировал активность изоформ HDAC2 и 6 в гиппокампе и ослаблял депрессивно-подобное поведение мышей в условиях хронического стресса. Эти эффекты были сопряжены с экспрессией факторов BDNF и pCREB, участвующих в регуляции эпигенетических модификаций [18]. В модельной депрессии, вызываемой социальной депривацией и хроническим стрессом, бутират натрия улучшал показатели памяти у мышей [54]. Комбинации ин-

гибиторов гистондеацетилаз различного класса с классическим антидепрессантом флуоксетином обладали синергичным действием: при ингибировании изоформ HDACs1 и 3 (класса I) усиливался антидепрессивный эффект флуоксетина, а при торможении ферментов класса II отмечалось потенцирование его анксиолитической активности [47]. Несколько работ посвящено молекулярной патологии шизофрении, рассматриваемой в аспекте “эпигенетической дизрегуляции”. Детализация этих представлений следует в работе [53], где на аутопсийном материале больных шизофренией и биполярным расстройством было установлено, что экспрессия генов, связанных с психическими заболеваниями, сопряжена с изменениями ацетилирования гистонов. Сделан общий вывод о потенциальной возможности селективного воздействия ингибиторов HDAC при психических расстройствах [6].

При анализе молекулярных процессов, сопровождающих эффекты ингибиторов гистондеацетилаз, учитывается коррекция множества внутриклеточных сигнальных процессов, управляющих координацией “причастных” генов. Это влияние относится к изменениям реакций апоптоза, клеточного цикла, синаптической реорганизации. На основании широкого геномного анализа ставится вопрос о возможности использования новой формы терапии у больных психосоматической патологией [16]. Анализ возможного применения ингибиторов HDAC для стабилизации когнитивных нарушений, как средств коррекции психических расстройств, включающих тревожность, фобии, депрессию, травмы, приведен в обзоре [57].

6. Блокада ферментов эпигенеза как новый терапевтический подход. Достаточно ли доказательств?

Информация, полученная в экспериментальных и клинических исследованиях, свидетельствует о причастности ферментов эпигенеза и модификации хроматина к нейродегенеративным, ишемическим и психическим заболеваниям мозга. В первую очередь внимание обращено на изменения активности различных изоформ ферментов.

Ингибиторы гистондеацетила (HDACi) исходно рассматривались как новый класс препаратов противоопухолевой терапии. Субероиланилид гидроксамовой кислоты (SAHA, Vorinostat, Zolinza™) и циклический дипептид ромидепсин (Romidepsin, Istodax™) были утверждены в 2006 и 2009 гг. FDA (США) в качестве средств лечения Т-клеточной лимфомы кожи. Публикации последних месяцев свидетельствуют об активном поиске препаратов, селективных ингибиторов HDACs, эффективных в лечении онкологических заболеваний [31, 38].

Ингибиторы HDACs влияют на процессы апоптоза, торможения роста и гибели клеток при массивном образовании митохондриальных гидроперекисей и аутофагии. Помимо деацетилирования гистонов, эти ферменты участвуют в гидролизе других белков, при-

частных к экспрессии генов, клеточной пролиферации и гибели клеток различных тканей. Как общее положение следует принять, что ингибиторы различных изоформ HDACs способствуют реализации как протекторных, так и цитотоксических реакций. “Поливалентность” связанных с функциями HDAC1 процессов расценивается как “молекулярный баланс” между выживанием и гибелью нейрональной клетки. В этой многоликой “игре” участвуют нейротрофические белки, ингибиторы фактора опухолевого роста, блокаторы про- и противовоспалительных интерлейкинов.

Первые клинические испытания вальпроата натрия были проведены в 1977 г. на небольшой группе пациентов с болезнью Гентингтона. Однако в этих исследованиях не обнаружена терапевтическая эффективность этого средства [52]. Более оптимистичный результат был получен при лечении вальпроевой кислотой миоклонической гиперкинезии [46]. Ведется активный поиск веществ, селективных в отношении определенных изоформ HDAC. Внимание уделяется тестированию новых соединений на клетках и моделях болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, некоторых формах психических нарушений. Однако в целом клинический опыт апробации ингибиторов HDAC для терапии нейродегенеративных расстройств остается недостаточным

Большой спектр заболеваний мозга — травматических, ишемических, нейродегенеративных, психических — предполагает “задействованность” особенных зон мозга в соответствии со специфичностью патологии. В связи со значительным разнообразием HDACs возникает вопрос о поиске ингибиторов, эффективных в отношении конкретных “мишеней”. Попыткам решить эту задачу посвящены многие (преимущественно, экспериментальные) исследования. Специфичность HDACs-ингибирующего действия различных химических соединений с учетом их селективной активности проиллюстрирована на рис. 2.

В литературе приводятся причины, которые ограничивают потенциальные возможности ингибиторов гистондеацетилаз как терапевтических средств. “Достаточно ли доказательства данного направления целесообразности применения модификаторов транскрипционной активности нуклеосом?” — так ставится ныне вопрос. Насколько убедительны для клинициста результаты преимущественно модельных экспериментов? Одним из существенных контраргументов внедрения в клиническую практику эпигенетических модификаторов является то, что большинство протестированных ингибиторов тормозят активность нескольких изоформ HDAC (“пан-деацетилирующее” действие), и наблюдаемые эффекты скорее отражают изменения общей модификации гистонов. Плейотропные эффекты ингибиторов HDAC могут включать: (а) влияние на выживание нейронов или апоптоз; (б) анти- или провоспалительные эффекты клеток микроглии; (в) потенцировать иммуносупрессию лимфоци-

тов; (г) стимулировать или тормозить дифференцировку нервных клеток и др. Таким образом, при работе с ингибиторами HDACs широкого спектра возникает дилемма между защитой и повреждением клеточного пула в его функциональном многообразии.

Вот несколько примеров. Так, для реализации деацетилирующей активности, по-видимому, необходимо взаимодействие различных изоформ HDACs. Изоформы HDAC1 и 2, часто встречающиеся в одних и тех же белковых комплексах, могут выполнять различные функции. Отсутствие HDAC1 у ювенильных мышей приводит к ранней летальности, которая не может быть компенсирована присутствием “партнера” — HDAC2. Трансгенные животные, лишенные либо HDAC1, либо HDAC2, не демонстрируют заметных изменений в образовании новых нейронов (нейрогенез), тогда как нокаут обеих изоформ HDAC1 и HDAC2 приводит к нарушениям нейрональной дифференцировки в период развития мозга [12, 39]. Гиперэкспрессия изоформ HDAC2 и HDAC3 ассоциируется с формированием бокового амиотрофического склероза, тогда как для одного HDAC1 описана нейропротекторная роль [21]. Другие примеры, свидетельствующие о функциональной специфичности изоформ HDAC, были приведены выше. Таким образом, на нынешнем этапе поиска ингибиторов HDACs в качестве нового лекарственного средства для лечения заболеваний мозга ключевым оказывается вопрос о веществах, избирательно активных в отношении определенных изоформ HDACs.

Результаты исследований на аутопсийном и экспериментальном материалах при ишемической патологии мозга (раздел 4) предлагают, по сути, новый клинический вариант восстановительной терапии с помощью ингибиторов HDACs. Интересным в рамках этого подхода оказывается информация о влиянии ингибиторов на формирование из стволовых единиц новых нейрональных клеток для компенсации поврежденной ишемией ткани мозга.

Наконец, следует принять во внимание еще один аспект возможности фармакологической коррекции ферментов эпигенеза. Основные исследования относятся к применению ингибиторов, воздействующих на деацетилирование гистонов. Однако признается, что такая стратегия выглядит недостаточной, поскольку модификация гистонов и комплектация хроматина обеспечиваются взаимодействием белков различной субстратной специфичности — гистондеацетилаз (HDACs), гистонацетилтрансфераз (HATs) и ДНК-метилтрансфераз (DNMTs) — ситуация, плохо учитываемая в современном увлечении исключительно ингибиторами HDACs. Растущий объем исследований указывает на значение дисрегуляции в системе HATs для формирования возрастных и нейродегенеративных заболеваний. Применение средств специфической активации ацетилтрансферазы гистонов восстанавливает баланс ферментов, контролируемых “статус доступа”

к ДНК. Фармакологическая стимуляция активности NATs может рассматриваться как дополнительный вариант этой общей терапевтической стратегии [42, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпигенетические механизмы, контролирующие структуру хроматина, опосредуют экспрессию генов в ответ на экзо- и эндогенные стимулы. Аберрации хроматина оказывают влияние на экспрессию генов и ассоциируются с формированием нейродегенеративных, ишемических, а также психических расстройств. Эти процессы “подкреплены” участием биохимических регуляторных молекул, обеспечивающих координацию сигналов и доведение команды до генного аппарата нейрона.

После секвенирования генома человека выяснилось, что собственно генетическая информация оказывается недостаточной для понимания огромного спектра фенотипических реакций организма, реализуемых в ответ на изменения факторов внешней и внутренней среды. Очевидно, эпигенетика играет в этом смысле чрезвычайно важную роль, сопрягая 2 важнейшие категории — консервативного кода ДНК и лабильной реактивности генетического аппарата.

Гипотеза эпигенетического “гистонового кода”, как принципа конечной физиологической функции, получила подтверждение в формате концепции, которая объединяет экспрессию транскрипционных сигнальных молекул, посттрансляционных модификаций гистонов и комбинаторной экспрессии генов, сопряженной с ремоделированием структуры хроматина. Утверждается точка зрения, что метилирование ДНК, которое реализуется как двунаправленный баланс активности ферментов определяет изменения конформации хроматина, играя основную роль в экспрессии “нужных” генов.

На базе значительного экспериментального и клинического материала прослежены изменения активности HDACs при возрастных, ишемических, нейродегенеративных и психических расстройствах. Их конкретность и достоверность иллюстрировались с помощью нового экспериментального подхода — применения ингибиторов гистондеацетилазы. Выяснилась тонкая регуляция патологических процессов, к которой оказываются причастными изоформы белков HDACs, и которые коррегируются ингибиторами селективной специфичности. На этой основе формулируется идея новых “мишеней” для терапии “больного” мозга. Исследование на уровне экспериментальных моделей и подходов *in vitro* химических соединений различного класса дает большой материал для реализации этой новой концепции.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013 – 2020 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. В. Буренкова, Е. А. Александрова, И. Ю. Зарайская, *Росс. физиол. журн. им. Сеченова*, **99**(2), 212 – 220 (2013).
2. О. В. Буренкова, Е. А. Александрова, И. Ю. Зарайская, *Бюл. эксперим. биол. мед.*, **156**(11), 561 – 564 (2013).
3. О. В. Воробьева, Л. Н. Гринкевич, *Вавилов. журн. генет. селекции*, **18**(2), 345 – 353 (2014).
4. О. А. Гомазков, *Успехи современ. биол.*, **135**(6), 542 – 562 (2014).
5. О. А. Гомазков, *Нейрогенез как адаптивная функция мозга*, ИКАР, Москва (2013).
6. S. Akbarian, *Brain Res. Bul.*, **83**(3 – 4), 103 – 107 (2010).
7. F. H. Bardai, V. Price, M. Zaayman, et al., *J. Biol. Chem.*, **287**, 35444 – 35453 (2012).
8. F. Coppède, *Front Genet*, **5**, 220 – 242 (2014).
9. H. E. Covington 3rd, I. Maze, Q. C. LaPlant, *J. Neurosci.*, **29**(37), 11451 – 11460 (2009).
10. M. E. Cudkovicz, P. L. Andres, S. A. Macdonald, et al., *Amyotroph. Later. Scler.*, **10**(2), 99 – 106 (2009).
11. H. Ding, P. J. Dolan, G. V. Johnson, *J. Neurochem.*, **106**(5), 2119 – 2130 (2008).
12. W. Fischle, F. Dequiedt, M. J. Hendzel, et al., *Mol. Cell*, **9**(1), 45 – 57 (2002).
13. Y. I. Francis, M. Fà, H. Ashraf, et al., *J. Alzheimers Dis.*, **18**(1), 131 – 139 (2009).
14. Y. Fujita, S. Morinobu, S. Takei, et al., *J. Psychiatr. Res.*, **46**(5), 635 – 643 (2012).
15. C. L. Gibson, S. P. Murphy, *J. Neurochem.*, **115**(4), 806 – 813 (2010).
16. D. R. Grayson, M. Kundakovic, R. P. Sharma, *Mol. Pharmacol.*, **77**(2), 126 – 135 (2010).
17. J. S. Guan, S. J. Haggarty, E. Giacometti, et al., *Nature*, **459**(7243), 55 – 60 (2009).
18. A. Han, Y. B. Sung, S. Y. Chung, M. S. Kwon, *Neuropharmacology*, **81**, 292 – 302 (2014).
19. P. Hogarth, L. Lovrecic, D. Krainc, *Mov. Disord.*, **22**(13), 1962 – 1964 (2007).
20. F. Hollis, F. Duclot, A. Gunjan, M. Kabbaj, *Horm. Behav.*, **59**(3), 331 – 337 (2011).
21. C. Janssen, S. Schmalbach, S. Boeselt, et al., *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, **69**(6), 573 – 581 (2010).
22. H. Jin, A. Kanthasamy, D. S. Harischandra, et al., *J. Biol. Chem.*, **289**(50), 34743 – 34767 (2014).
23. K. Jin, X. Wang, L. Xie, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**(35), 13198 – 13202 (2006).
24. Y. Kawaguchi, J. J. Kovacs, A. McLaurin, et al., *Cell*, **115**(6), 727 – 738 (2003).
25. C. Kim, H. Choi, E. S. Jung, et al., *PLoS One*, **7**(8), e42983 (2012).
26. H. J. Kim, D. M. Chuang, *Am. J. Trans. Res.*, **6**(3), 206 – 623 (2014).
27. H. J. Kim, P. D. Leeds, M. Chuang, *J. Neurochem.*, **110**(4), 1226 – 1240 (2009).
28. K. Kuriyama, M. Honma, T. Yoshiike, Y. Kim, *Neuropharmacology*, **64**, 424 – 431 (2013).
29. J. Levenson, K. O’Riordan, K. D. Brown, et al., *J. Biol. Chem.*, **279**(39), 40545 – 40591 (2004).
30. X. Li, N. Kazgan, *Int. J. Biol. Sci.*, **7**(5), 575 – 587 (2011).
31. X. Li, W. Xu, *Drug Discov. Ther.*, **8**(5), 225 – 228 (2014).
32. X. S. Liu, M. Chopp, H. Kassis, et al., *Neuroscience*, **220**, 313 – 321 (2012).
33. J. Macas, C. Nern, K. H. Plate, S. Momma, *J. Neurosci.*, **26**(50), 13114 – 13119 (2006).
34. N. Majdzadeh, L. Wang, B. E. Morrison, et al., *Dev. Neurobiol.*, **68**(8), 1076 – 1092 (2008).

35. S. C. McQuown, R. M. Barrett, D. P. Matheos, et al., *J. Neurosci.*, **31**(2), 764 – 774 (2011).
36. P. Mergenthaler, U. Dirnagl, *J. Physiol.*, **589**(17), 4147 – 4155 (2011).
37. S. Michan, Y. Li, M. M. Chou, et al., *J. Neuroscience*, **30**(29), 9695 – 9707 (2010).
38. C. Micelli, G. Rastelli, *Drug Discov. Today*, **20**(6), 718 – 735 (2015).
39. R. L. Montgomery, J. Hsieh, A. C. Barbosa, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**(19), 7876 – 7881 (2009).
40. M. J. Morris, M. Mahgoub, E. S. Na, et al., *J. Neurosci.*, **33**(15), 6401 – 6411 (2013).
41. B. E. Morrison, N. Majdzadeh, X. Zhang, et al., *Mol. Cell Biol.*, **26**(9), 3550 – 3564 (2006).
42. S. Pirooznia, F. Elefant, *Front. Cell Neurosci.*, **7**(30): doi: 10.3389 / fncel.2013.00030 (2013).
43. M. O. Poulter, L. Du, I. C. Weaver, et al., *Biol. Psychiatry*, **64**(6), 645 – 652 (2008).
44. H. Qing, G. He, P. T. Ly, et al., *J. Exp. Med.*, **205**(12), 2781 – 2789 (2008).
45. A. Ricobaraza, M. Cuadrado-Tejedor, A. Garcia-Osta, *Front Biosci (Elite Ed)*, **3**, 1375 – 1384. (2011).
46. C. Saft, T. Lauter, P. H. Kraus, et al., *BMC Neurol.*, **6**, 11 – 17 (2006).
47. C. Schmauss, *Sci. Rep.*, **5**, 8171 (2015); doi: 10.1038 / srep08171 (2015).
48. S. Schweizer, A. Meisel, S. Märtsch, *Cereb. Blood Flow Metab.*, **33**(9), 1335 – 1346 (2013).
49. B. R. Selvi, J. C. Cassel, T. K. Kundu, A. L. Boutillier, *Biochim. Biophys. Acta*, **1799**(10 – 12), 840 – 853 (2010).
50. S. Sharma, R. Taliyan, *Parkinsons Dis.*, **2015**, 303294 (2015). doi: 10.1155 / 2015 / 303294.
51. S. Someya, W. Yu, W. C. Hallows, et al., *Cell*, **143**(5), 802 – 812 (2010).
52. G. R. Symington, D. P. Leonard, P. J. Shannon, F. J. Vajda, *Am. J. Psychiatry*, **135**(3), 352 – 354 (1978).
53. B. Tang, B. Dean, E. A. Thomas, *Transl. Psychiatry*, **1**, e64 (2011).
54. S. S. Valvassori, R. B. Varela, C. O. Arent, et al., *Cur. Neurovasc. Res.*, **11**(4), 359 – 366 (2014).
55. Z. Wang, L. K. Tsai, J. Munasinghe, et al., *Stroke*, **43**(9), 2430 – 2436 (2012).
56. Y. Wang, X. Wang, L. Liu, X. Wang, *Neurosci. Lett.*, **467**(3), 212 – 216 (2009).
57. N. Whittle, N. Singewald, *Biochem. Soc. Trans.*, **42**(2), 569 – 581 (2014).
58. S. Yasuda, M. H. Liang, Z. Marinova, *Mol. Psychiatry*, **14**(1), 51 – 59 (2009).
59. K. Zhang, M. Schrag, A. Crofton, *Proteomics*, **12**(8), 1261 – 1268 (2012).

Поступила 20.07.15

EPIGENETIC ENZYMES AS THERAPEUTIC TARGETS FOR TREATING BRAIN DISORDERS

O. A. Gomazkov

V. N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Pogodinskaya 10/8, Moscow, 119121 Russia

At present, epigenetic regulation is considered as a dynamic mechanism by means of which cells realize adaptive response to signals from both the inner medium and environment. DNA methylation, as bidirectional balance of the activity of histone-acetylation and -deacetylation (HDAC) enzymes, determines the conformation of chromatin thus playing the main role in “appropriate” gene expression. HDACs represent emerging therapeutic targets in the context of treating various forms of neurological and mental illness. A wide range of brain diseases are associated with imbalance between protein acetylation levels and transcriptional dysfunctions. Increasing evidence supports the notion that histone hypoacetylation and transcriptional dysfunction are involved in a large number of neurodegenerative conditions *in vivo* and *in vitro*. Histone deacetylase inhibitors (HDACIs) that affect the acetylation status of histones and other important cellular proteins have been recognized as potentially useful therapeutic means for a broad range of human disorders. This review summarizes the current state of development of HDACIs based therapeutics and their application for the treatment of human brain neurodegenerative, ischemic, and cognitive pathologies. Treatment with various HDACIs can correct these deficiencies and has emerged as a promising new strategy for therapeutic intervention based on the experimental search and clinical testing of HDACIs representing compounds of various classes.

Keywords: epigenetics; histone deacetylases (HDACs); neurodegenerative pathology; brain ischemic disease; psychic disorders; selective HDAC inhibitors.