



# УСПЕХИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК



НАУКА

— 1727 —

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 55, номер 4, 2024

---

---

Посттравматическое стрессовое расстройство: молекулярные механизмы межгенерационного и трансгенерационного наследования <i>Е. Л. Паткин, И. О. Сучкова, С. Г. Цикунов, Г. А. Софронов</i>	3
Перспективы применения модели хронического социального конфликта в медико-биологических исследованиях <i>Н. Н. Кудрявцева</i>	27
Множественные механизмы аллостерической регуляции рецептора лютеинизирующего гормона <i>А. О. Шпаков, К. В. Деркач</i>	45
Хлорные мембранные каналы и транспортеры – роль в формировании электрической активности пейсмекерного и рабочего миокарда <i>Я. А. Воронина, А. М. Кархов, В. С. Кузьмин</i>	75
Участие рецепторов семейства T1R, экспрессирующихся за пределами ротовой полости, в регуляции метаболизма <i>В. О. Муровец, Е. А. Созонтов, В. А. Золотарев</i>	91
Ожирение как основной фактор влияния метаболического синдрома на функцию внешнего дыхания <i>Н. П. Александрова</i>	113

# Contents

---

---

**Vol 55, No 4, 2024**

---

---

Post-Traumatic Stress Disorder: Molecular Mechanisms of the Intergenerational and Transgenerational Inheritance <i>E. L. Patkin, I. O. Suchkova, S. G. Tsikunov, H. A. Sofronov</i>	3
Prospects for Applying the Chronic Social Conflict Model in Medical and Biological Research <i>N. N. Kudryavtseva</i>	27
Multiple Mechanisms of Allosteric Regulation of the Luteninizing Hormone Receptor <i>A. O. Shpakov, K. V. Derkach</i>	45
Chloride Channels and Transporters – Role in the Electrical Activity of Pacemaker and Working Myocardium <i>Y. A. Voronina, A. M. Karhov, V. S. Kuzmin</i>	75
The Involvement of T1R Family Receptors Expressed Outside the Oral Cavity in the Regulation of Metabolism <i>V. O. Murovets, E.A. Sozontov, V. A. Zolotarev</i>	91
Obesity as the Main Factor of Metabolic Syndrome Influencing on Respiratory Function <i>N. P. Aleksandrova</i>	113

УДК 577.218:159.9.072+612.8:159.922

## ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЕ СТРЕССОВОЕ РАССТРОЙСТВО: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МЕЖГЕНЕРАЦИОННОГО И ТРАНСГЕНЕРАЦИОННОГО НАСЛЕДОВАНИЯ

© 2024 г. Е. Л. Паткин<sup>а, \*</sup>, И. О. Сучкова<sup>а, \*\*</sup>, С. Г. Цикунов<sup>а, \*\*\*</sup>, Г. А. Софронов<sup>а, б, \*\*\*\*</sup>

<sup>а</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Институт экспериментальной медицины”,  
Санкт-Петербург, 197022 Россия

<sup>б</sup>Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования  
“Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова” Министерства обороны Российской Федерации,  
Санкт-Петербург, 194044 Россия

\*E-mail: elp44@mail.ru

\*\*E-mail: secikunov@yandex.ru

\*\*\*E-mail: secikunov@yandex.ru

\*\*\*\*E-mail: gasofronov@mail.ru

Поступила в редакцию 02.05.2024 г.

После доработки 31.07.2024 г.

Принята к публикации 10.08.24 г.

Посттравматическое стрессовое расстройство – психическое расстройство, тесно связанное с дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, для развития которого необходимо перенесение психотравмирующего события, выходящего за рамки повседневного опыта человека и вызывающего негативные эмоции и воспоминания, которые сохраняются достаточно продолжительное время. На вероятность развития посттравматического стрессового расстройства влияют как факторы внешней среды, так и генетические и эпигенетические особенности организма. Эпигенетические модификации в данном случае выступают в качестве динамичных биомаркеров (“нанометок») воздействия окружающей среды на геном (эпигеном), которые могут при определенных условиях исчезать либо сохраняться не только у особи, непосредственно подвергшейся психогенной травме, но и передаваться в ряду поколений. В обзоре рассматривается вопрос о возможных механизмах межгенерационного и трансгенерационного наследования биологических эффектов посттравматических и связанных со стрессом расстройств.

**Ключевые слова:** травматический стресс, ПТСР, межгенерационное наследование, трансгенерационное наследование, метилирование ДНК, модификации гистонов, нкРНК, ремоделирование хроматина.

**DOI:** 10.31857/S0301179824040011 **EDN:** ANHYDF

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) (класс F43 по МКБ-10) [211] – заболевание, которое характеризуется развитием определенных симптомов, возникших после одного или нескольких травмирующих событий (т. е. травматического/психологического стресса) [9, 49, 95, 100]. Согласно МКБ-10 [49, 211] и диагностическому руководству по психическим расстройствам (DSM-5) [42], травматическое событие определяется как угроза жизни или фактическая смерть (несчастный случай, физическое насилие, стихийное бедствие или военные действия), которое переживается непосредственно или опосредованно через семью или близких друзей.

Для постановки диагноза ПТСР у пациента на протяжении более месяца должны наблюдаться как минимум один-два симптома из каждой перечисленной ниже категории: 1) симптомы искажения (повторяющиеся, непроизвольные, навязчивые тревожные воспоминания, ночные кошмары, дежавю, флешбэк, потери осознания окружающей действительности, психологический или физиологический дискомфорт при напоминании о травматическом событии); 2) симптомы избегания (избегание мыслей, чувств или воспоминаний, связанных с событием, избегание действий, мест, разговоров или людей, которые вызывают воспоминания о событии); 3) негативные последствия для когнитивной способности и настроения (диссоциативная амнезия, стойкие и преувеличенные

негативные убеждения или ожидания, постоянные искаженные мысли о причине или последствиях травмы, стойкое негативное эмоциональное состояние, снижение интереса или участия в важных событиях, отчуждение от других людей, неспособность испытывать положительные эмоции; 4) измененный уровень сознания и реактивности (трудности со сном, раздражительность, вспышки гнева, неразумное поведение, аутоагрессия, проблемы с концентрацией, повышенный старт-рефлекс, гипербдительность). Вышеописанные симптомы должны вызывать существенный дискомфорт или значительно затруднять социальную или профессиональную деятельность, но при этом не должны быть связаны с физиологическим воздействием психоактивных веществ или другим заблуждением [49, 193].

По некоторым оценкам, от 40 до 90% населения во всем мире в течение своей жизни подвергаются травмирующим событиям, однако только у 4–9% из них (в зависимости от страны и региона проживания) развивается ПТСР, в то время как другие становятся более резистентными к возможному последующему стрессу (явление, получившее название – “посттравматический рост”) [99, 100, 110, 112, 153, 154]. Причем остается открытым вопрос о механизмах наблюдаемого в ряде случаев несоответствия между характером (силой) перенесенной психической травмы и развитием расстройств, связанных с ней. По этой причине выявление молекулярных маркеров, которые способствуют восприимчивости или резистентности к ПТСР, является актуальным для клинической и фундаментальной медицины.

Стресс вызывает как немедленное, так и долгосрочное психологическое, физическое и эмоциональное напряжение, приводящее к глубоким нейробиологическим изменениям, которые влияют на будущие поведенческие реакции [5, 6, 13, 14, 16, 22, 29, 47], и является серьезным фактором риска развития многих болезней, включая сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, нарушения обмена веществ, функционирования иммунной и репродуктивной систем [4, 22, 31, 73, 183]. При этом наблюдаются межиндивидуальные различия в реакции организма не только со стороны развития психопатологии в ответ на перенесенную психическую травму, но и в развитии упомянутых заболеваний.

Как показывают современные данные, воздействие психогенной травмы – необходимый, но недостаточный фактор для развития ПТСР. За возникающие индивидуальные реакции отвечает не только жизненный опыт (ранее перенесенные травмирующие события), но также индивидуальная способность организма компенсировать такие воздействия на молекулярном уровне, за который отвечают его геном [7, 11, 34, 184, 192] и эпигеном

[26, 35, 84, 100, 112, 167, 204]. Эпигенетические модификации (метилирование/гидроксиметилирование ДНК, модификации гистонов, нкРНК) в данном случае выступают в качестве динамичных биомаркеров (“нанометок”) воздействия окружающей среды на геном, которые могут при определенных условиях исчезать либо сохраняться не только у особей, непосредственно подвергшихся психогенной травме, но и наследоваться их потомками в ряду поколений [19, 46, 55, 85, 151, 157, 171]. В отличие от генетических мутаций динамический характер эпигенетических изменений, вызванных факторами внешней и/или внутренней среды, обусловлен тем, что они не изменяют структуру ДНК, т. е. ее нуклеотидную последовательность [41], но при этом способны сохраняться в ряду митотических делений, а также передаваться по наследству [157, 171, 189, 197].

Следует отметить, что в научных кругах еще остается дискуссионным вопрос, можно ли относить эпигеном к наследственной составляющей организма. Это связано с тем, что эпигенетические характеристики часто воспринимаются только как регуляторная надстройка генома, регуляторный механизм, управляющий активностью генов, пластичный и динамичный, функционирующий в соответствии с программой развития организма и реагирующий на внешние воздействия. Не вызывает сомнения, что геном и эпигеном – это две составляющие, необходимые для фенотипической реализации закодированной наследственной информации [41, 62, 89, 157, 171, 189, 197]. Именно благодаря наследуемым эпигенетическим меткам происходит тонкая регуляция экспрессии генов во время эмбриогенеза, именно с их непосредственным участием происходит дифференцировка клеток, благодаря им существуют и функционируют импринтированные гены [21, 89, 157, 197]. В настоящее время опубликован ряд работ относительно закономерностей и материальных основ эпигенетического наследования [41, 62, 65, 69, 85, 160, 189, 195, 197, 205] и некоторые из них будут упомянуты ниже. Выявленные факты эпигенетического наследования в ряду поколений позволяют надеяться на получение в ближайшем будущем более полных доказательств того, чтобы рассматривать некоторые составляющие эпигенома (эпигенетические модификации) в качестве наследственных характеристик организма. Несмотря на важную роль эпигенетического наследования в биологии, молекулярные посредники такой негенетической передачи информации только начинают расшифровываться.

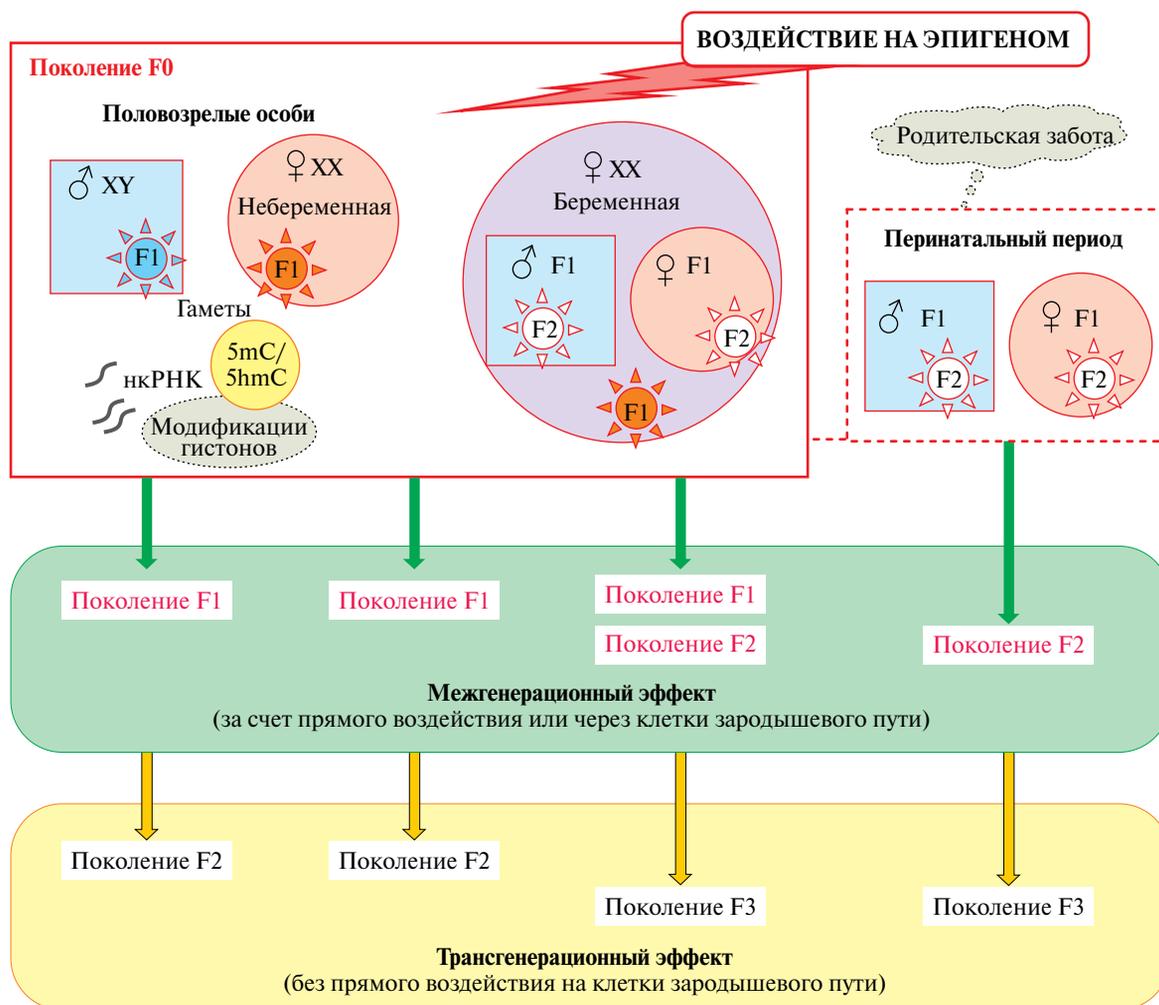
Как геному, так и эпигеному для передачи закодированной наследственной информации последующим поколениям клеток необходима ее репликация, которую в случае ДНК осуществляют ДНК-полимеразы, а в случае эпигенетических меток – различные “эпигенетические” ферменты, в

частности поддерживающие ДНК-метилтрансферазы. Эпигенетические модификации передаются дочерним клеткам во время митотического деления, так называемое соматическое эпигенетическое наследование [41, 157], и последующим поколениям организмов в результате их мейотического наследования, так называемое генерационное эпигенетическое наследование [65, 160, 171, 172, 189, 195], при котором наследование эпигенетической информации происходит с вовлечением клеток зародышевой линии (гамет) при отсутствии постоянного прямого воздействия неблагоприятных внешних и/или внутренних факторов.

В зависимости от того, на какой стадии онтогенеза и какое поколение особей подверглось воздействию конкретного триггера, вызвавшего эпигенетические изменения в клетках зародышевой линии, в каком поколении и в течение скольких поколений регистрируются (сохраняются)

эпигенетические и фенотипические изменения, произошедшие в результате воздействия факторов окружающей среды, в литературе стали выделять межгенерационное (*intergeneration*) и трансгенерационное (*transgeneration*) эпигенетическое наследование (так называемый эффект влияния предков) [69, 77, 115, 160, 195] (рис. 1).

Ряд исследователей считают эти два термина взаимозаменяемыми, тогда как другие все же рекомендуют дифференцировать эти варианты эпигенетического наследования в соответствии с определением, предложенным Скиннером [188]. Так, при межгенерационном наследовании эпигенетические изменения в клетках зародышевой линии происходят в результате прямого (непосредственного) воздействия неблагоприятных факторов либо до зачатия, либо во время беременности. Сохранение возникших эпигенетических изменений в гаметах может приводить к фенотипическим нарушениям у



**Рис. 1.** Различия между межгенерационным и трансгенерационным наследованием биологических эффектов, вызванных воздействием различной природы. F0, F1, F2 и F3 – поколения особей; 5mC/5hmC – метилирование и гидроксиметилирование ДНК; звезды внутри кругов и квадратов - гаметы (сперматогонии/оогонии, сперматоциты/ооциты).

потомства, причем у них риск развития заболевания может отличаться по сравнению с родителями. Когда воздействие происходит до зачатия, мужские и женские половые клетки подвергаются одинаковому воздействию, что может привести к передаче изменений следующему поколению. В этом случае прямое воздействие на половозрелый организм самцов (F0) и небеременных самок (F0) может проявиться фенотипически у их потомства (F1) из-за возникших на различных стадиях гаметогенеза эпигенетических нарушений в сперматозоидах или ооцитах. Когда же прямому воздействию подвергается уже беременная самка (мать, F0), то это может отразиться не только на ее детях (первое поколение F1), но и на внуках (второе поколение F2) в результате внутриутробного влияния на эмбрион (F1), в котором закладываются половые клетки (сперматогонии, оогонии) (т. е. будущее F2) [69, 77, 115, 160]. Для поколений F1 и F2 здесь имеет место пренатальный эффект, поскольку нельзя исключать возможности того, что воздействию фактора окружающей среды они подвергались одновременно с беременной самкой F0 (Вейсман назвал это явление “параллельной индукцией”) [195].

При трансгенерационном наследовании эпигенетические изменения передаются последующим поколениям через клетки зародышевой линии, которые не подверглись прямому воздействию факторов окружающей среды, т. е. когда биологические (фенотипические) эффекты эпигенетических изменений проявляются в неэкспонированном поколении. В случае воздействия на беременных самок F0 это третье поколение F3, которое будет первым поколением, которое приобретет трансгенерационный фенотип (см. рис. 1). В случае постнатального воздействия или воздействия на взрослый организм до зачатия это будет поколение F2, которое не подверглось прямому воздействию. Предполагается, что трансгенерационные эпигенетические эффекты могут лежать в основе устойчивых и эволюционно важных изменений [69, 77, 115, 160, 188, 195].

В обзоре приводятся данные, подтверждающие возможность наследования в ряду поколений биологических эффектов ПТСР, а также рассмотрены потенциальные механизмы наследования потомками негативных последствий психогенной травмы, перенесенной родителями.

#### НАСЛЕДОВАНИЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ

В настоящее время опубликовано много работ, подтверждающих возможность наследования как собственно ПТСР, так и биологических последствий (эффектов) перенесенного травматического стресса, в том числе в отношении боевой травмы

[104, 181, 190, 217]. Так, описаны случаи, где ПТСР родителей было причиной (триггером) развития психических расстройств (тревога, депрессия, отклонения в поведении, повышенная тревожность, алкоголизм, злоупотребление психотропными веществами) [24, 30, 83, 122, 146] и других биологических нарушений у их потомства (как в первом, так и последующих поколениях) [29, 55, 60, 125]. Например, у ветеранов сербско-боснийского конфликта и войны в Персидском заливе рождались дети с проблемами в развитии, нарушениями в поведении и эмоциональном состоянии [114, 118, 200]. Воздействие травмирующих событий у переживших Холокост было причиной нейропсихических отклонений у их детей, провоцировало повышенный уровень тревожности и было связано с риском развития ПТСР [215, 216, 218, 219]. У потомков ветеранов Второй мировой войны, войны во Вьетнаме [88, 92, 135, 152], Сирии и Ираке [96, 109, 139, 191] наблюдались различные психические нарушения (в частности, склонность к агрессии и насильственному поведению), которые положительно коррелировали с интенсивностью и продолжительностью боевой травмы их родителей.

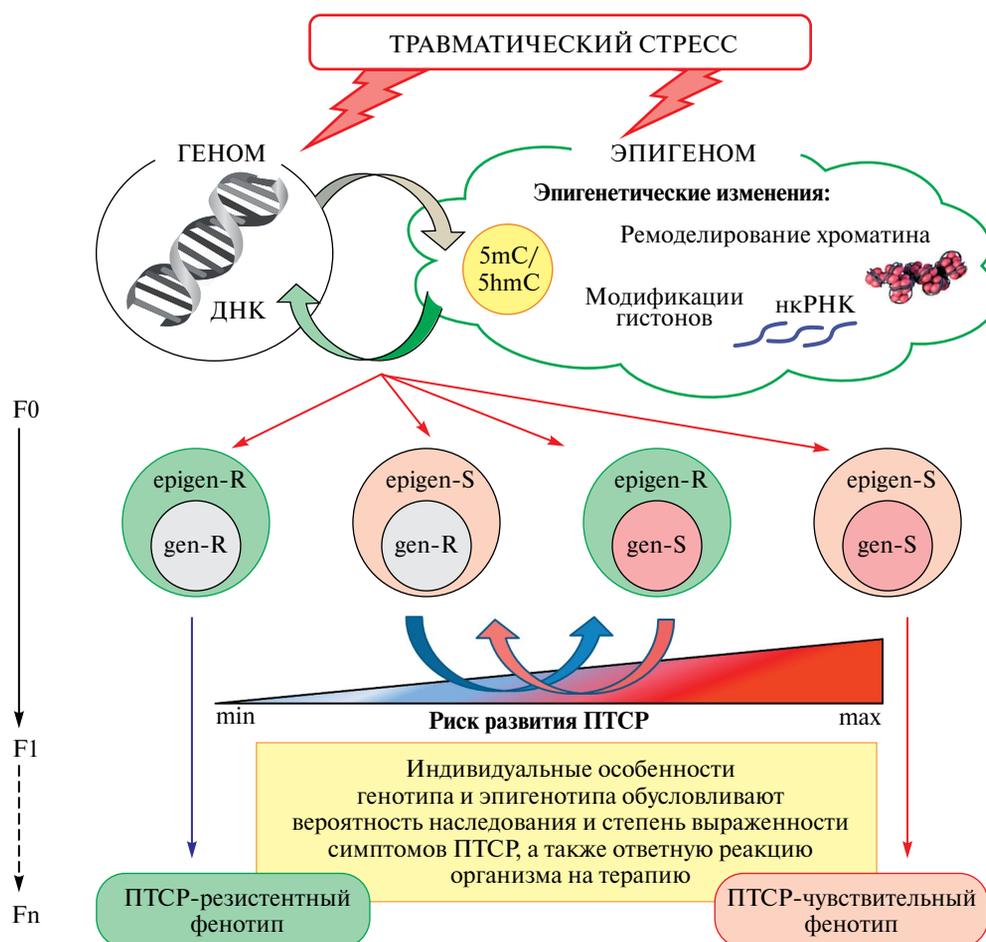
Исследования взрослых, подростков и детей дошкольного возраста, подвергшихся насильственному переселению (вынужденное перемещение, иммиграция), выявили у них нарушения психического здоровья, а также показали имплицитное (неосознаваемое) избегание стимулов, связанных с переселением [63, 109, 137, 169, 210]. Кроме того обнаружено, что негативные эффекты травматического стресса, перенесенного во время беременности или в раннем детском возрасте, могут иметь отсроченные во времени биологические последствия и проявиться только во взрослом возрасте в виде нарушений как психического здоровья (например, тревожность, депрессия, поведенческие расстройства, ПТСР) [86, 141], а так же повысить риск развития болезней различных систем организма [28, 79, 120, 144, 159, 173].

Современные молекулярно-генетические методы геномного и эпигеномного анализа, проводимые на людях (в частности, исследования близнецов) и лабораторных животных, способствуют пониманию механизмов развития ПТСР [7, 26, 35, 100, 167, 204]. Используемые методические подходы указывают на то, что ПТСР и его биологические последствия могут наследоваться потомками, даже если они не подвергались первоначальному травмирующему событию [28, 39, 62, 84, 177, 178].

Эксперименты по моделированию психогенной травмы на лабораторных животных подтвердили возможность наследования ПТСР в ряду поколений, а также его отдаленных последствий (в частности, отклонения в поведении, нарушение когнитивных способностей, метаболизма и др.) у особей, перенесших стресс в детском возрасте [10, 24,

28, 44, 47]. Как оказалось, травматический стресс в раннем возрасте повышает риск когнитивных и нервно-психических расстройств в более позднем возрасте как у травмированных особей, так и у их потомства, которое не подвергалось прямому воздействию. Например, у потомства самцов лабораторных мышей и крыс, подвергшихся пренатальному травматическому стрессу, изменялась экспрессия генов, отвечающих за синаптическую пластичность. При этом не только у отцов, подвергшихся психогенной травме, но и у их потомков наблюдалось депрессивно-подобное поведение и нарушалась долговременная память [14, 23, 58, 163]. Нарушение социального поведения и депрессивно-подобное состояние также было обнаружено у потомков самок мышей и крыс, подвергшихся психогенной травме [15, 22, 40, 47]. В мозге таких животных (как у матерей, так и их детей) наблюдались отклонения в метаболитном транскриптоме (было затронуто как минимум 50 биомолекул) [40]. Так,

используя комплексный подход, сочетающий метаболомный, транскриптомный и биоинформационный анализ для определения молекулярных процессов, связанных с поведенческими нарушениями, вызванными стрессом, авторы выявили изменение уровня 2-гидроксиглутаровой кислоты, которая является маркером гипоксии и митохондриальной дисфункции, а также эпигенетическим модификатором [40]. В экспериментах, где моделировались ситуации нарушения/отсутствия родительской заботы (прерванный или ослабленный материнский уход, разлука с матерью) и выработка страха (угроза жизни), была доказана существенная роль родительской заботы в формировании поведенческих реакций у потомства. Поэтому родительская забота может являться сильной детерминантой наследования в ряду поколений последствий перенесенной психогенной травмы [3, 25, 27, 66, 186].



**Рис. 2.** Предполагаемые молекулярные основы развития ПТСР и связанных со стрессом расстройств. 5mC/5hmC – метилирование и гидроксиметилирование ДНК; epigen-R/gen-R – ПТСР-резистентный эпигенотип/генотип; epigen-S/gen-S – ПТСР-чувствительный эпигенотип/генотип (наличие мутаций и/или эпимутаций, ассоциированных с риском развития ПТСР и связанных со стрессом расстройств); F0, F1, Fn – поколения особей, подвергшихся травматическому стрессу и/или унаследовавших биологические эффекты ПТСР.

Биологические эффекты травматического стресса могут передаваться потомкам двумя основными путями – без и с вовлечением клеток зародышевого пути (т.е. половых клеток). В первом случае имеет место так называемая *социальная передача* – приобретение потомством поведенческих или физиологических паттернов родителей (психологический импринтинг, копирование поведения). Второй вариант – это истинное наследование эффектов психогенной травмы, затрагивающих геном и эпигеном половых клеток [35, 40, 46, 115, 125, 171] (см. рис. 1). В данном случае индивидуальные генетические различия (структурные изменения на уровне ДНК, мутации и полиморфные варианты генов, т.е. генотипические особенности организма) обуславливают врожденную чувствительность или резистентность к посттравматическому стрессовому расстройству, тогда как эпигенетические модификации и эпимутации (т.е. стохастические и/или детерминированные изменения в эпигеноме, которые отличаются от условной нормы) [20, 33] – это один из возможных способов биологического отражения в геноме результатов воздействия окружающей среды (рис. 2).

На эпигеном клеток влияют как генетические факторы (нуклеотидная последовательность ДНК (в частности, сайты узнавания для ДНК-метилтрансфераз, нкРНК), так и факторы окружающей среды, поэтому воздействия окружающей среды становятся “*записанными*” на самих генах в виде эпигенетических меток. Каскад эпигенетических изменений запускает “*эпигенатор*”. Им может быть как сигнал окружающей среды, так и внутренние

процессы, протекающие в клетке, в организме. Эпигенатор пробуждает “*эпигенетический инициатор*”, который определяет место эпигенетической модификации и действует непосредственно на хроматин [53]. Эпигенетические модификации (метки) не изменяют нуклеотидную последовательность ДНК, но они принимают непосредственное участие в регуляции экспрессии генов и могут способствовать длительному поддержанию фенотипических эффектов травматического стресса, и в некоторых случаях передаваться в ряду поколений, как было отмечено во многих публикациях [40, 69, 115, 185, 195, 218]. К эпигенетическим механизмам регуляции экспрессии генов относятся метилирование и гидроксиметилирование ДНК [41, 55, 157], модификации гистонов [103, 112, 155], ремоделирование хроматина [45, 57, 71, 94], а также молекулярные внутриклеточные процессы с вовлечением некодирующих РНК (нкРНК) (в частности, малых и длинных нкРНК) [65, 107, 128, 156, 158, 194] и обеспечивающих формирование пространственной (трехмерной) архитектуры хроматина [7, 130, 206] (см. рис. 2).

#### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМУ СТРЕССОВОМУ РАССТРОЙСТВУ

За последние тридцать лет опубликовано большое количество экспериментальных работ и обзоров, посвященных генетическим маркерам, которые ассоциированы с риском развития ПТСР [7, 8, 34, 35, 39, 208]. Однако из-за мультифакторной

**Таблица 1.** Гены нейромедиаторных систем, ассоциированные с риском развития ПТСР и связанных со стрессом расстройств

Нейромедиаторная/нейроэндокринная система	Гены	Ссылки
Серотонинергическая	<i>5-HTT (SLC6A4), HTR1A, HTR2A, HTR2C, HTR3A, TPH1, TPH2</i>	[54, 81, 105, 150]
Дофаминергическая	<i>DAT1 (SLC6A3), COMT, DRD2, DRD5, PPP1R1B</i>	[34, 131, 201, 220]
ГАМК-ергическая	<i>GAD1, GAD2, GABBR1, GABBR2, GABRB2, GABRR2</i>	[8, 101, 182]
Глутаматергическая	<i>SLC17A8, EAAT2, GRIN1, GRIN2A, GRIN2C, GLUN2B, GLUA1, GLUA2</i>	[81, 98, 148]
Норадренергическая	<i>NET (SLC6A2), ADRB1, ADRB2, RGS2,</i>	[37, 43, 134, 161]
Опиоидергическая	<i>OPRD1, OPRK1, OPRL1, OPRM1, PENK, PDYN</i>	[64, 75, 105, 111, 196, 207]
Эндоканнабиноидная	<i>CNR1, CNR2, FAAH</i>	[72, 175, 179]
Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая	<i>ADCYAP1, ADRA1B, ADRA2C, CRFR1, NR3C1, FKBP5</i>	[34, 37, 142, 161, 180]

природы ПТСР генетическая составляющая данной патологии все еще остается недостаточно изученной, даже несмотря на достигнутые результаты в этой области исследований.

Поскольку при ПТСР нарушения затрагивают нейромедиаторные системы, то в первую очередь основное внимание уделяется генам (табл. 1), которые задействованы в их функционировании [2, 5, 6]. Причем в развитии, прогрессировании и фармакотерапии ПТСР особое значение отводится генам, вовлеченным в фармакокинетику ингибиторов обратного захвата серотонина – *CYP2D6* и *CYP2C19* (генам ферментов печени) и *ABCВ1* (гену, связанному с гематоэнцефалическим барьером), а также генам, участвующим как в фармакодинамике ингибиторов обратного захвата серотонина, так и в патофизиологии ПТСР и связанных с ним состояний [140].

Помимо перечисленных выше генов, у пациентов с ПТСР и лабораторных животных в экспериментах по моделированию данной патологии активно исследуются гены нейротрофического фактора мозга (*BDNF*) [36, 93, 124, 201], моноаминоксидаз А и В (*MAOA* и *MAOB*) [35, 201, 212], альфа синуклеина (*SNCA*) [91], синаптотаксина (*SYT1*) [64], нейронального белка 4 домена PAS (*NPAS4*) [64], нейропептида Y (*NPY*) [132], полипептида, активирующего аденилатциклазу (*ADCYAP1*) [34, 170], белка А, индуцируемого фактором роста нервов (белок 1 реакции раннего роста) (*EGR*) [64], кисспептина (*KISS1*) [31, 102, 168, 198], рецепторов с тирозинкиназной активностью (*RTKs*) [64], рецепторов окситоцинов (*OXTR*) [35, 123, 124], аргинин-вазопрессина (*AVPR1A*) [121, 164, 187], орексинов (гипокретинов) (*OX1R*, *HCRT2R*) [32, 64, 127, 214], ядерных рецепторов подсемейства 4 группы А (*NR4A2*) [64], а также генов иммунного ответа и воспаления (*IL-18*, *IL-1β*, *TNFα*, *NFκB*, *IGF2*, *MRGPRX2*) [7, 12, 59, 143], сигнальных путей ERK/MARK, JNK/MARK, p38/MARK, Ras/Raf/MARK и ErbB (*DUSP c-Jun*, *c-Fos*, *c-Myc*, *ERK1*, *ERK2*, *MARK*) [7, 56, 64, 162] и ферментов системы цитохрома P450 (*CYP1A2* и *CYP1B1*) [7]. Поскольку при ПТСР с изменением передачи сигналов нейромедиаторов и с воспалительной реакцией связана митохондриальная дисфункция [165], то исследуются гены окислительного стресса, в частности *HIF-1α* (фактора, индуцируемого гипоксией 1-альфа), *HIF-2α* (другое название *EPAS1*) (фактора, индуцируемого гипоксией 2-альфа) и *GPx4* (глутатионпероксидазы 4) [5, 52, 116, 133].

Результаты анализа полногеномного поиска ассоциаций (GWAS – *genome-wide association study*) указывают на возможное участие в патогенезе ПТСР продуктов генов *SAMK5*, *EGFR*, *FGF12*, *KANSL1*, *KRAS*, *NLGN1*, *PARK2*, *PODXL*, *PRKCA*, *RAF1*, *RORA*, *SH3RF3*, *TCF4*, *TLL-1*, *ZDHHC14* [8, 34, 56], а также белков “молодости” (гены *FGF*,

*FNDC5*, *GDF11*, *MANF*, *NAMPT*, *NGF*, *TIMP-2*) и “старости” (гены *B2M*, *CCL11*, *GDF15*, *HMGBl*, *JAM*) [11]. При этом не исключается вероятность того, что генетические маркеры, связанные с риском развития ПТСР, могут быть локализованы не только в кодирующих участках, но и находиться в интронах или вне генов. В частности, это относится к полиморфным вариантам генов – однонуклеотидным изменениям, также называемыми однонуклеотидными полиморфизмами (SNP – *single nucleotide polymorphism*), микро- и минисателлитным повторам (VNTRs – *variable number tandem repeats*), а также LINE последовательностям и мобильным элементам генома [7, 34, 82].

Необходимо отметить, что хронический стресс обладает мутагенным эффектом, так как приводит к повышению концентрации внутриклеточных мутагенов. Это в свою очередь провоцирует нестабильность генома, активирует транспозазы и интегразы, вызывает структурные перестройки генетического материала [7]. Например, эмоционально-болевое стрессорное воздействие способно индуцировать образование хромосомных aberrаций в клетках костного мозга, а также приводить к инсерционному полиморфизму ретротранспозона L1 и снижению количества вариаций числа копий (CNV – *copy number variations*) гена *Rpl13* (рибосомный белок L13). Причем частота и вероятность таких изменений, как было показано, зависит от продолжительности воздействия и от уровня возбудимости животных [7]. Если же такие мутации возникают в клетках зародышевого пути (гаметах), то это может быть одним из объяснений наследования в ряду поколений негативных последствий перенесенной психогенной травмы.

С помощью анализа функционального обогащения дифференциально экспрессируемых генов (DEG) из базы данных Gene Expression Omnibus (GEO) и построения сети белок-белковых взаимодействий (PPI) было обнаружено, что с ПТСР ассоциированы 1919 генов с повышенной экспрессией и 851 ген с пониженной экспрессией [56, 149, 166, 176]. Например, снижение уровня экспрессии выявлено для генов *BDNF* (нейротрофический фактор мозга), *FLT3LG* (лиганд тирозинкиназы 3, связанный с Fms), *DYRK1A* (регулируемая тирозин-фосфорилированием с двойной специфичностью киназа 1A), *DCN* (декорин) и *FKBP8* (пептидил-пролил цис-транс-изомераза) [93], а также генов *TSPO* (транслокационный белок), *TSPOAPI* (TSPO-ассоциированный белок 1), *TNFRSF14* (член суперсемейства рецепторов TNF 14), связанных с функционированием микроглии и регулирующих иммунный ответ и провоспалительные реакции [35].

Повышение уровня экспрессии описано для генов *VNN1* (пантеиназа), *SERPINB2* (ингибитор активатора плазминогена 2) и *ETF-DH* (митохондриальная электронпереносная

флавопротеин-убихинооксидоредуктаза) [93]. В то же время для гена *Igf2* (инсулиноподобный фактор роста 2) было показано, что изменение его активности зависит от пола потомков особей, переживших психогенную травму. Причем отклонение от нормы в экспрессии *Igf2* сохраняется в течение двух поколений. Так, в гиппокампе и неокортексе у пренатально стрессированных самцов крыс и их потомков мужского пола наблюдалось повышение уровня мРНК *Igf2*, тогда как самки – потомки пренатально стрессированных самцов, напротив, демонстрировали снижение экспрессии *Igf2* [151]. Отклонение от нормы по уровню экспрессии генов в зависимости от пола пренатально стрессированного животного было обнаружено также для кортикотропин-рилизинг гормона (*Crh*, *Crhr1*), аргинин-вазопрессина (*Avp*) и его рецепторов (*Avpr1a*, *Avpr1b*) в паравентрикулярном ядре гипоталамуса [149, 163].

В модели избегания торможения при ПТСР было выявлено, что у стрессированных крыс в голубом пятне повышены уровни мРНК генов биосинтеза (*Th*, *Dbh*), транспортера (*Net*) и рецепторов (*Y1r*, *Y2r*) норадреналина, а также каннабиноидного рецептора (*Cb1*). Тогда как в базолатеральной части миндалевидного тела у этих животных происходило снижение экспрессии генов *Cb1* и *Y1R* и повышение активности генов системы кортикотропин-рилизинг-гормона (*Crh*, *Crhr1*), хотя в центральной части миндалевидного тела существенных изменений не наблюдалось [175]. Результаты этих исследований способствуют пониманию молекулярных механизмов передачи сигнала в цепи “голубое пятно-миндалевидное тело” в реакциях на эмоционально возбуждающие стимулы и в проявлении ПТСР.

Кроме того, установлено, что генетически обусловленная возбудимость нервной системы является фактором, определяющим характер экспрессии генов, вовлеченных в работу нейромедиаторных систем. Так, в гиппокампе крыс выявлены различия в экспрессии генов нейромедиаторных систем между особями с высоким и низким порогом возбудимости нервной системы. Наиболее выраженные различия обнаружены для генов катехоламинергической (*Adrb3*, *Drd2*, *Drd5*, *Ppp1r1b*), ГАМК-ергической (*Gabrb2*, *Gabrr2*), глутаматергической (*Grin2c*), серотонинергической (*Htr2c*) и опиоидергической (*Penk*) систем. У животных с низким порогом возбудимости (высоковозбудимые особи) выявлено больше генов с более высокой экспрессией, чем у крыс с высоким порогом возбудимости (низковозбудимые особи). Воздействие эмоционально-болевого стресса у крыс с низким порогом возбудимости приводило к изменению экспрессии генов ГАМК-ергической (*Gabra4*, *Gabrg1*), глутаматергической (*Gria3*) и опиоидергической (*Pdyn*) системами. Тогда как

у особей с высоким порогом возбудимости изменялась экспрессия генов катехоламинергической (*Adra1b*, *Adra2c*, *Drd5*, *Ppp1r1b*, *Slc17a8*, *Sncg*, *Maob*), ГАМК-ергической (*Gabra2*, *Gabrr2*), глутаматергической (*Gad2*, *Grin2c*, *Slc17a8*), серотонинергической (*Moab*) и опиоидергической (*Penk*) систем [17]. У крыс с низким порогом возбудимости длительный эмоционально-болевого стресс приводил к снижению экспрессии гена *Bdnf*, которое сохранялось в течение 7 суток в префронтальной коре и в течение 2 месяцев в гиппокампе. В то время как у крыс с высоким порогом возбудимости не было выявлено изменений в экспрессии *Bdnf* [36]. Через 24 дня после перенесенного стресса у животных также наблюдалось увеличение уровня мРНК интерлейкина-1-бета (*Il-1β*) как у высоковозбудимых (в гиппокампе и миндалине), так и низковозбудимых крыс (в гиппокампе). Тогда как экспрессия гена фактора некроза опухоли (*Tnf-α*) у этих животных не изменялась [183]. Установлено, что у крыс, переживших витальный стресс (контакт с хищником – питоном), на 25 сутки после воздействия в вентральном отделе гиппокампа изменяется экспрессия гена глутаматного ионотропного рецептора *Grin2b* (другое название *GluN2b*) [148]. Помимо этого выявлено, что в гиппокампе самцов мышей с симптомами депрессии, вызванной хроническим социальным стрессом, изменяется экспрессия генов, кодирующих белки, вовлеченные в процессы кальциевой регуляции. Так, по сравнению с контролем у особей с депрессией была повышена экспрессия генов *Cacna1g*, *Cacnb3*, *Camk1g*, *Camk2d*, *Camk2n2*, *Caly*, *Caln1*, *S100a16*, *Slc24a4* и снижена экспрессия генов *Cacna2d1*, *Cacng5*, *Grin2a*, *Calm2*. Поэтому предполагается, что под влиянием хронического социального стресса происходит нарушение кальциевой сигнализации в гиппокампе [18].

Как известно, дифференциальная экспрессия генов находится под эпигенетической регуляцией [41], поэтому отдельное направление исследований при ПТСР связано с поиском генов-кандидатов на основе оценки изменений эпигенетических модификаций. С помощью полноэпигеномных исследований поиска ассоциаций (EWAS – *epigenome-wide association study*) показано, что наиболее перспективным эпигеномным маркером ПТСР в настоящее время является метилирование ДНК [35, 138]. Например, выявлена корреляция между риском развития и тяжестью симптомов ПТСР и эпигенетическими изменениями генов *BRSK1* (специфическая для мозга серин/треонин-протеинкиназа 1), *DOCK2* (инициатор цитокинеза 2), *FKBP5* (FK506-связывающий белок 5), *HGS* (субстрат тирозинкиназы, регулируемый фактором роста гепатоцитов), *LCN8* (липокалин 8), *NFG* (фактор роста нервов), *NR3C1* (глюкокортикоидный рецептор) [126], *NRG1* (нейрегулин-1, отвечающий за синаптическую пластичность), *RNF39* (белок

безымянного пальца 39, отвечающий за синаптическую пластичность), *ZFP57* (белок цинковых пальцев *ZFP57*) [108, 136, 203], а также генов пути метаболизма линолевой кислоты [74], ГАМК-ергической [51] и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой [78] систем.

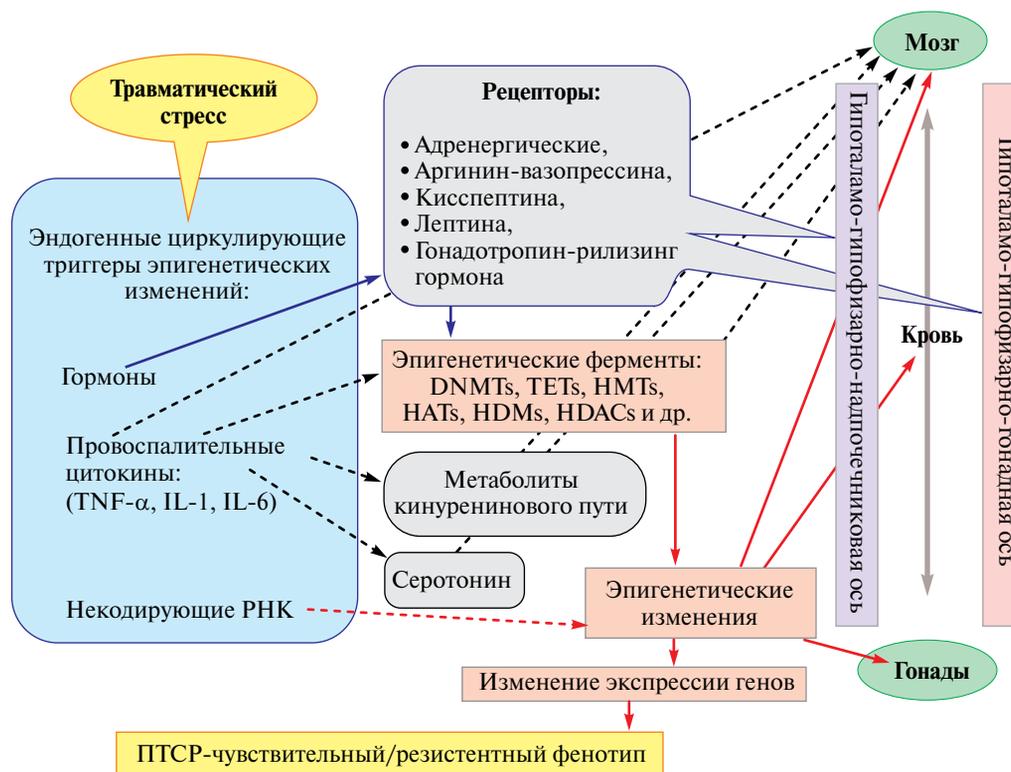
Таким образом, результаты экспериментальных и клинических исследований указывают на необходимость дальнейшего поиска биомаркеров (генетических и эпигенетических), которые связаны с этиологией (в том числе в зависимости от типа перенесенной травмы) и патогенезом ПТСР. Полученные данные будут способствовать не только установлению молекулярных механизмов данного заболевания (в частности механизмов наследования в ряду поколений биологических эффектов ПТСР), но и разработке эффективных персонализированных терапевтических подходов.

### ИНДУКЦИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В КЛЕТКАХ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

В настоящее время остается открытым вопрос о молекулярных механизмах влияния

травматического стресса на эпигеном клеток зародышевой линии (половых клеток), которые обеспечивают межгенерационное и трансгенерационное наследование его биологических эффектов [171, 172]. Еще не установлено, какие именно эпигенетические механизмы служат векторами наследования в контексте травматического стресса, как и почему они передаются и сохраняются из поколения в поколение, как и какие именно эпигенетические изменения, вызванные травматическим стрессом, передаются от половых клеток (сперматозоидов и ооцитов) к клеткам головного мозга потомков. По-видимому, в результате травматического стресса высвобождаются некие эндогенные циркулирующие факторы, запускающие эпигенетические изменения не только в головном мозге, но и других органах и тканях, в том числе гонадах (рис. 3).

Следует подчеркнуть, что клетки головного мозга и клетки зародышевой линии находятся в иммунологически привилегированном положении — они защищены гематоэнцефалическим и гематотестикулярным барьером соответственно. Поэтому циркулирующие факторы-триггеры эпигеномных изменений должны быть жирорастворимыми и



**Рис. 3.** Схема предполагаемых молекулярных механизмов влияния травматического стресса на эпигеном клеток зародышевой линии (половых клеток), отвечающих за межгенерационное и трансгенерационное наследование его биологических эффектов. DNMTs – ДНК-метилтрансферазы; TETs – белки из семейства “транслокаций десять-одиннадцать” метилцитозин диоксигеназы (ДНК-деметилазы); HATs – гистоновые ацетилтрансферазы; HMTs – гистоновые метилтрансферазы; HDACs – гистоновые деацетилазы; HDMs – гистоновые деметилазы.

легко переносимыми. Эту функцию, например, могут выполнять гормоны, цитокины или циркулирующие нкРНК, которые могут высвобождаться при психогенном стрессе и действовать как на нейроны, так и на половые клетки. В данном случае гормоны, по-видимому, “запускают” эпигенетические механизмы через адренергические рецепторы [38, 70], рецепторы гонадотропин-рилизинг-гормона [97, 147], рецепторы аргинин-вазопрессина [1, 119, 199], рецепторы лептина [68] и кисспептина, которые регулируют гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось [213] (см. рис. 3).

Как известно, при психогенном стрессе повышается активность симпатической нервной системы и снижается активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и парасимпатической нервной системы, что может приводить к повышению уровня провоспалительных цитокинов. Последние, в свою очередь, могут влиять на функционирование различных отделов головного мозга (например, миндалевидного тела, гиппокампа, медиальной префронтальной коры, передней поясной извилины и островковой части мозга) либо за счет прямого нейротоксического действия, либо через изменение уровней метаболитов кинуренинового пути [50, 61, 106], а также серотонина [113, 209] и/или эпигенетических ферментов [145, 174]. Причем возникшие отклонения от нормы в уровне и/или активности эпигенетических ферментов потенциально могут изменить эпигеномный статус не только в нейронах, но и половых клетках, и таким образом обеспечить передачу информации о перенесенном травматическом стрессе потомкам (см. рис. 3).

Результаты проведенных доклинических и клинических исследований подтверждают роль нкРНК и нкРНК-опосредованной регуляции активности генов в этиологии неврологических и психических расстройств, в частности синдрома Туретта, шизофрении, расстройств аутистического спектра, биполярных и депрессивных расстройств, тревоги, а также ПТСР [48, 87, 90, 156, 158]. В модельных экспериментах на животных установлено, что нкРНК могут быть одним из потенциальных факторов, обеспечивающих передачу эпигенетической информации о перенесенном психогенном стрессе в ряду поколений через клетки зародышевой линии, а также от половых клеток к клеткам головного мозга потомков. Так, изменения уровня нкРНК были выявлены в сперме самцов, подвергшихся стрессу, независимо от того, был ли он перенесен ими в детстве или во взрослом возрасте. При этом у их потомства наблюдались отклонения в поведении, связанные с тревогой и депрессией, что объяснялось нарушением регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. В данном случае нкРНК оказывало влияние на пост-транскрипционную регуляцию активности генов, и, как

следствие, изменялась траектория развития мозга у потомства стрессированных самцов [85, 172, 185]. Причем было установлено, что нкРНК сперматозоидов продолжали функционировать после оплодотворения, изменяя восприимчивость потомства к стрессу в зависимости от пола детей [172, 185].

Однако нельзя исключать, что первоначальные изменения уровня и паттерна нкРНК, вызванные психогенной травмой, могут “переноситься” на другие эпигенетические метки (в частности, метилирование ДНК и/или модификации гистонов), чтобы “сохраниться” во время клеточных делений [197]. Так, установлена связь между нкРНК и ДНК-метилтрансферазами [76] и метил-СрG-связывающим белком (MeCP2) [67]. Кроме того, возможно, что эпигенетические изменения и эпимутации в половых клетках, вызванные травматическим стрессом, каким-то образом в ряду поколений трансформируются в генетические изменения из-за снижения стабильности генома и приводят к вариациям числа копий (CNV – *copy number variation*), аналогично тому, что, например, было обнаружено в экспериментах на крысах, подвергшихся воздействию винклозолина на ранних стадиях эмбрионального развития [189].

Еще одно из возможных объяснений наследования биологических эффектов травматического стресса в ряду поколений и от половых клеток к клеткам формирующегося головного мозга потомства заключается в том, что возникшие в результате стресса эпигеномные изменения в гаметах по какой-то (пока не установленной) причине избегают перепрограммирования (“стирания” эпигеномных меток) во время эмбриогенеза и передаются во все три зародышевых листка. Возможно, в данном случае имеет место молекулярный механизм, подобный тому, что характерен для импринтированных генов и где задействованы дифференциально метилированные районы ДНК, локус-специфические модификации гистонов и нкРНК [21, 80, 117, 129, 202]. Безусловно, для проверки данного предположения и выяснения молекулярных механизмов межгенерационного и, возможно, трансгенерационного наследования эпигеномных изменений, вызванных травматическим стрессом, требуется одновременное проведение молекулярно-генетических, цитогенетических, биохимических и физиологических исследований не только на животных, подвергшихся стрессу, но и их потомстве на разных стадиях онтогенеза (как в различных структурах головного мозга, так и половых клетках).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в клинической практике нет биомаркеров острого и хронического стресса, которые являются основными факторами риска развития нейродегенеративных, психических и

психосоматических расстройств. Травматический стресс приводит к структурным и функциональным изменениям на молекулярном уровне не только в головном мозге, но и периферических тканях, в том числе органах репродуктивной системы, поэтому негативные последствия перенесенной психогенной травмы могут наследоваться потомками, чему и было уделено особое внимание в представленном обзоре.

Чувствительность и резистентность к травматическому стрессу, характер и степень выраженности биологических эффектов перенесенного стресса, а также ответная реакция на терапию (ее эффективность) зависят не только от генетических, но и от эпигенетических особенностей организма. Возникающие при стрессе эпигенетические изменения, затрагивающие метилирование ДНК, модификации гистонов, нкРНК, ремоделирование хроматина могут являться полноценными биомаркерами травматического стресса. Причем данные эпигенетические изменения регистрируются не только в головном мозге, но и других органах и тканях, в частности, лейкоцитах и клетках букального эпителия, которые могут являться релевантными носителями биомаркеров травматического стресса.

Эпигенетические изменения – это молекулярные механизмы, которые динамично реагируют на внешние и внутренние воздействия и с помощью которых стрессовые жизненные события могут закрепляться на протяжении всей жизни и наследоваться из поколения в поколение, реализуясь в виде aberrантных поведенческих фенотипов, связанных с психогенной травмой. Создание животных моделей ПТСР позволяет на молекулярном уровне исследовать не только изменения в различных отделах головного мозга, возникающих при травматическом стрессе, но и установить эпигенетические механизмы наследования, а также выявить факторы, ответственные за индукцию эпигенетических изменений в половых клетках. Кроме того, именно благодаря обратимости эпигенетических модификаций появляется возможность разработки эффективных терапевтических подходов для профилактики и коррекции ПТСР и связанных со стрессом расстройств.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственных заданий Министерства науки и высшего образования РФ № FGWG-2022-0012 и № FGWG-2023-0001

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Авалиани Т.В., Апраксина Н.К., Цикунов С.Г.* Применение вазопрессина для коррекции последствий влияния психогенной травмы матерей на поведение потомства // *Евразийский Союз Ученых (ЕСУ)*. 2020. Т. 3. № 9(78). С. 4–10. <https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2020.3.78.1013>
2. *Августинович Д.Ф., Алексеенко О.В., Бахитановская И.В., Корякина Л.А., Липина Т.В. и др.* Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование // *Успехи физиол. наук*. 2004. Т. 35. № 4. С. 19–40.
3. *Авдеева Н.Н.* Биологические детерминанты материнского поведения // *Современная зарубежная психология (электронный ресурс)*. 2022. Т. 11. № 1. С. 7–16. <https://doi.org/>
4. *Апраксина Н.К., Немцева П.С., Авалиани Т.В., Сучкова И.О., Паткин Е.Л. и др.* Отсроченное влияние витального стресса на уровень полногеномного метилирования ДНК на разных стадиях эстрального цикла самок крыс // *Патогенез*. 2022. Т. 25. № 3. С. 65–66. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.03.65-66>
5. *Дубинина Е.Е., Щедрина Л.В., Мазо Г.Э.* Основные биохимические аспекты патогенеза депрессии. Часть I // *Успехи физиол. наук*. 2018. Т. 49. № 1. С. 28–49.
6. *Дубинина Е.Е., Щедрина Л.В., Мазо Г.Э.* Основные биохимические аспекты патогенеза депрессии. Часть II // *Успехи физиол. наук*. 2021. Т. 52. № 1. С. 31–48. <https://doi.org/10.31857/S0301179821010033>
7. *Дюжикова Н.А., Даев Е.В.* Геном и стресс-реакция у животных и человека // *Экологическая генетика*. 2018. Т. 16. № 1. С. 4–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen1614-26>
8. *Дюжикова Н.А., Скоморохова Е.Б., Вайдо А.И.* Эпигенетические механизмы формирования постстрессорных состояний // *Успехи физиол. наук*. 2015. Т. 46. № 1. С. 47–75.
9. *Евдокимов В.И., Шамрей В.К., Плужник М.С.* Развитие научных исследований по боевому стрессу в отечественных статьях с использованием программы VOSVIEWER (2005-2021 гг.) // *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях*. 2023. Т. 2. № 2. С. 99–116. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2023-0-2-99-116>
10. *Клюева Н.Н., Авалиани Т.В., Апраксина Н.К.* Липидный спектр у потомства крыс в модели прекондиционирования психотравмирующего воздействия // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной*

- терапии. 2020. Т. 18. № 1. С. 57–61. <https://doi.org/10.17816/RCF18157-61>
11. Кузник Б.И., Чалисова Н.И., Цыбиков Н.Н., Линькова Н.С., Давыдов С.О. Стресс, старение и единая гуморальная защитная система организма. эпигенетические механизмы регуляции // Успехи физиол. наук. 2020. Т. 51. № 3. С. 51–68. <https://doi.org/10.31857/S030117982002006X>
  12. Кучер А.Н. Нейрогенное воспаление: биохимические маркеры, генетический контроль и болезни // Бюл. сибир. мед. 2020. Т. 19. № 2. С. 171–181. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-2-171-181>
  13. Ордян Н.Э., Малышева О.В., Акулова В.К., Пивина С.Г., Холова Г.И. Способность к обучению и экспрессия гена инсулиноподобного фактора роста II в мозге самцов крыс – потомков отцов, подвергнутых стрессующему воздействию в парадигме “стресс–рестресс” // Нейрохимия. 2020. Т. 37. № 2. С. 153–160. <https://doi.org/10.31857/S1027813320020077>
  14. Ордян Н.Э., Пивина С.Г., Акулова В.К., Холова Г.И. Изменение характера поведения и активности гипофизарно-адренкортикальной системы крыс – потомков отцов, подвергнутых стрессированию в парадигме “стресс–рестресс” перед спариванием // Рос. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. 2020. Т. 106. № 9. С. 1085–1097. <https://doi.org/10.31857/S0869813920090058>
  15. Ордян Н.Э., Пивина С.Г., Миронова В.И., Ракитская В.В., Акулова В.К. Активность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы пренатально стрессированных самок крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // Рос. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. 2014. Т. 100. № 12. С. 1409–1420.
  16. Ордян Н.Э., Смоленский И.В., Пивина С.Г., Акулова В.К. Особенности формирования тревожно-депрессивного состояния в экспериментальной модели посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных самцов крыс // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2013. Т. 63. № 2. С. 280–289. <https://doi.org/10.7868/S0044467713020068>
  17. Павлова М.Б., Дюжикова Н.А. Дифференциальная экспрессия генов нейромедиаторных систем в гиппокампе крыс, селектированных по порогу нервной возбудимости: влияние стресса // Сб. тез. XXIV съезда физиолог. общ. им. И.П. Павлова. СПб. 2023. С. 210–211.
  18. Павлова М.Б., Смагин Д.А., Кудрявцева Н.Н., Дюжикова Н.А. Изменение экспрессии генов, ассоциированных с кальциевыми процессами в гиппокампе мышей, под влиянием хронического социального стресса // Молекулярная биология. 2023. Т. 57. № 2. С. 373–383. <https://doi.org/10.31857/S0026898423020192>
  19. Паткин Е.Л. Эпигенетические механизмы распространенных заболеваний человека. СПб.: Нестор-История. 2008. 196 с.
  20. Паткин Е.Л., Софронов Г.А. Эколого-зависимые заболевания человека. Эпигенетические механизмы возникновения и наследования // Мед. акад. журн. 2015. Т. 15. № 3. С. 7–23.
  21. Паткин Е.Л., Сучкова И.О. Регуляторные механизмы импринтинга у млекопитающих // Цитология. 2006. Т. 48. № 7. С. 578–594.
  22. Пивина С.Г., Акулова В.К., Ракицкая В.В., Ордян Н.Э. Развитие поведенческих и гормональных нарушений в экспериментальной модели посттравматического стрессового расстройства у пренатально стрессированных самок крыс // Бюл. эксперимент. биол. и мед. 2014. Т. 157. № 3. С. 289–293. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2554-5>
  23. Пивина С.Г., Ракицкая В.В., Акулова В.К., Ордян Н.Э. Активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы пренатально стрессированных самцов крыс в экспериментальной модели посттравматического стрессового расстройства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т. 160. № 11. С. 542–545. <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3227-3>
  24. Рагаева Д.С., Игоница Т.Н., Брусенцев Е.Ю., Рожкова И.Н., Амтиславский С.Я. Отдаленные последствия ранних пренатальных воздействий на физиологические и поведенческие характеристики потомков // Успехи физиол. наук. 2018. Т. 49. № 4. С. 30–44. <https://doi.org/10.7868/S0301179818040033>
  25. Розанов В.А. Стресс-индуцированные эпигенетические феномены – еще один вероятный биологический фактор суицида // Суицидология. 2015. Т. 6. № 3(20). С. 3–19.
  26. Соколов П.Л., Чебаненко Н.В., Медная Д.М. Эпигенет. влияния и развитие мозга // Журн. неврол. и психиатрии им. С.С. Корсакова.

2023. Т. 123. № 3. С. 12–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.17116/jnevro202312303112>
27. *Степаничев М.Ю., Недогреева О.А., Климанова М.А. и др.* Хронический стресс, вызванный содержанием в условиях дефицита гнездового материала в раннем постнатальном периоде, оказывает влияние на поведение и стресс-реактивность самцов крыс // *Журн. высш. нервн. деят.* 2021. Т. 71. № 3. С. 370–386. <https://doi.org/10.31857/S0044467721030096>
  28. *Темирханова К.Т., Цикунов С.Г., Мельнов С.Б., Пятибрат Е.Д.* Влияние перенесенной психической травмы высокого риска террористической угрозы в пубертатном периоде на репродуктивную функцию женщин // *Вест. Санкт-Петербургского ун-та (Медицина)*. 2018. Т. 13. № 2. С. 152–163. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu11.2018.203>
  29. *Темирханова К.Т., Цикунов С.Г., Пятибрат А.О.* Особенности полового развития девочек, матери которых в догравидарном периоде пережили витальный стресс // *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасн. в чрезв. ситуац.* 2017. Т. 1. № 1. С. 54–61. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2017-0-54-61>
  30. *Темирханова К.Т., Цикунов С.Г., Пятибрат А.О.* Психологические особенности у женщин республики Дагестан, переживших стресс террористической угрозы // *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасн. в чрезв. ситуац.* 2017. Т. 3. № 3. С. 101–109. <https://doi.org/10.25016/2541-7487-2017-0-3-101-109>
  31. *Тиссен И.Ю., Лебедев А.А., Цикунов С.Г., Шабанов П.Д.* Кисспептин уменьшает проявления половой дисфункции у крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // *Психофармакология и биологическая наркология*. 2023. Т. 14. № 4. С. 237–244. <https://doi.org/10.17816/phbn623033>
  32. *Тиссен И.Ю., Якушина Н.Д., Лебедев А.А. и др.* Эффекты антагониста OX1R рецепторов орексина A SB-408124 на компульсивное поведение и уровень тревожности после витального стресса у крыс // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2018. Т. 16. № 1. С. 34–42. <https://doi.org/10.17816/RCF16134-42>
  33. *Толкунова К.М., Могучая Е.В., Ротарь О.П.* Трансгенерационное наследование: современные подходы к поиску причин заболеваний // *Артериальная гипертензия*. 2021. Т. 27. № 2. С. 122–132. <https://doi.org/10.18705/1607-419X-2021-27-2-122-132>
  34. *Фаустова А.Г.* Современные представления о генетических маркерах посттравматического стрессового расстройства // *Клиническая и специальная психология (Электронный ресурс)*. 2021. Т. 10. № 1. С. 61–79. <https://doi.org/10.17759/cpse.2021100104>
  35. *Фаустова А.Г., Юров И.Ю.* Эпигенетические и геномные механизмы в патогенезе посттравматического стрессового расстройства (обзор) // *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022. Т. 8. № 1. С. 15–35. <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-2>
  36. *Шалагинова И.Г., Зачепило Т.Г., Дюжикова Н.А.* Влияние длительного эмоционально-болевого стрессорного воздействия на экспрессию гена BDNF в мозге крыс с контрастной возбудимостью нервной системы // *Мед. акад. журн.* 2023. Т. 23. № 1. С. 67–74. <https://doi.org/10.17816/MAJ119980>
  37. *Abdullahi P.R., Raeis-Abdollahi E., Sameni H., Vafaei A.A. et al.* Protective effects of morphine in a rat model of post-traumatic stress disorder: Role of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and beta-adrenergic system // *Behav Brain Res*. 2020. V. 395. P. 112867. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112867>
  38. *Adeoya-Osiguwa S.A., Gibbons R., Fraser L.R.* Identification of functional alpha2- and beta-adrenergic receptors in mammalian spermatozoa // *Hum Reprod*. 2006. V. 21. № 6. P. 1555–1563. <https://doi.org/10.1093/humrep/del016>
  39. *Afifi T.O., Asmundson G.J., Taylor S., Jang K.L.* The role of genes and environment on trauma exposure and posttraumatic stress disorder symptoms: a review of twin studies // *Clin Psychol Rev*. 2010. V. 30. № 1. P. 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2009.10.002>
  40. *Alhassen S., Chen S., Alhassen L. et al.* Intergenerational trauma transmission is associated with brain metabolome remodeling and mitochondrial dysfunction // *Commun Biol*. 2021. V. 4. № 1. P. 783. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02255-2>
  41. *Allis D.C.D., Caparro M.-L., Jenuwein T., Reinberg D., Lachner M.* Epigenetics. Second edition. New-York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor. 2015. 967 p.
  42. *American psychiatric association.* Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Fifth edition. Arlington VA: American Psychiatric Association. 2013. 992 p.

43. *Amstadter A.B., Koenen K.C., Ruggiero K.J. et al.* Variation in RGS2 is associated with suicidal ideation in an epidemiological study of adults exposed to the 2004 Florida hurricanes // *Arch Suicide Res.* 2009. V. 13. № 4. P. 349–357. <https://doi.org/10.1080/13811110903266541>
44. *Andero R., Ressler K.J.* Fear extinction and BDNF: Translating animal models of PTSD to the clinic // *Genes Brain Behav.* 2012. V. 11. № 5. P. 503–512. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2012.00801.x>
45. *Antontseva E.V., Bondar N.P.* Chromatin remodeling in oligodendrogenesis // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2021. V. 25. № 5. P. 573–579. <https://doi.org/10.18699/VJ21.064>
46. *Arai J.A., Li S., Hartley D.M., Feig L.A.* Transgenerational rescue of a genetic defect in long-term potentiation and memory formation by juvenile enrichment // *J. Neurosci.* 2009. V. 29. № 5. P. 1496–1502. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5057-08.2009>
47. *Avaliani T.V., Belobokova N.K., Lazarenko N.S., Tsikunov S.G.* Peculiarities of behavior of offspring of rats-ambidexters surviving vital stress // *J. Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 2013. V. 49. № 6. P. 570–578. <https://doi.org/10.1134/S0022093013060042>
48. *Bam M., Yang X., Ginsberg J.P. et al.* Long non-coding RNA LINC00926 regulates WNT10B signaling pathway thereby altering inflammatory gene expression in PTSD // *Transl Psychiatry.* 2022. V. 12. № 1. P. 200. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-01971-5>
49. *Barnhill J.W.* Posttraumatic stress disorder (PTSD). In: *MSD Manual. Professional version.* 2023. <https://www.msmanuals.com/professional/psychiatric-disorders/anxiety-and-stressor-related-disorders/posttraumatic-stress-disorder-ptsd> (accessed: 14.01.2024.).
50. *Bartoli F., Cioni R.M., Cavaleri D. et al.* The association of kynurenine pathway metabolites with symptom severity and clinical features of bipolar disorder: An overview // *Eur Psychiatry.* 2022. V. 65. № 1. P. e82. <https://doi.org/10.1192/j.eurpsy.2022.2340>
51. *Ben David G., Amir Y., Tripathi K. et al.* Exposure to juvenile stress induces epigenetic alterations in the GABAergic system in rats // *Genes (Basel).* 2023. V. 14. № 3. P. 565. <https://doi.org/10.3390/genes14030565>
52. *Ben-Azu B., Adebayo O.G., Moke E.G. et al.* Geraniol attenuates behavioral and neurochemical impairments by inhibitions of HPA-axis and oxido-inflammatory perturbations in mice exposed to post-traumatic stress disorder // *J. Psychiatr Res.* 2023. V. 168. P. 165–175. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2023.10.057>
53. *Berger S.L., Kouzarides T., Shiekhhattar R., Shilatifard A.* An operational definition of epigenetics // *Genes Dev.* 2009. V. 23. № 7. P. 781–783. <https://doi.org/10.1101/gad.1787609>
54. *Bernabe C.S., Caliman I.F., de Abreu A.R.R. et al.* Identification of a novel perifornical-hypothalamic-area-projecting serotonergic system that inhibits innate panic and conditioned fear responses // *Transl Psychiatry.* 2024. V. 14. № 1. P. 60. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-02769-3>
55. *Bhattacharya S., Fontaine A., MacCallum P.E., Drover J., Blundell J.* Stress across generations: DNA methylation as a potential mechanism underlying intergenerational effects of stress in both post-traumatic stress disorder and pre-clinical predator stress rodent models // *Front Behav Neurosci.* 2019. V. 13. P. 113. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00113>
56. *Bian Y.Y., Yang L.L., Zhang B. et al.* Identification of key genes involved in post-traumatic stress disorder: Evidence from bioinformatics analysis // *World J. Psychiatry.* 2020. V. 10. № 12. P. 286–298. <https://doi.org/10.5498/wjp.v10.i12.286>
57. *Bielawski T., Misiak B., Moustafa A., Frydecka D.* Epigenetic mechanisms, trauma, and psychopathology: Targeting chromatin remodeling complexes // *Rev Neurosci.* 2019. V. 30. № 6. P. 595–604. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2018-0055>
58. *Bohacek J., Farinelli M., Mirante O. et al.* Pathological brain plasticity and cognition in the offspring of males subjected to postnatal traumatic stress // *Mol. Psychiatry.* 2015. V. 20. № 5. P. 621–631. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.80>
59. *Borgonetti V., Cruz B., Vozella V. et al.* IL-18 signaling in the rat central amygdala is disrupted in a comorbid model of post-traumatic stress and alcohol use disorder // *Cells.* 2023. V. 12. № 15. P. 1943. <https://doi.org/10.3390/cells12151943>
60. *Brady K.T., Killeen T.K., Brewerton T., Lucerini S.* Comorbidity of psychiatric disorders and posttraumatic stress disorder // *J. Clin Psychiatry.* 2000. V. 61 Suppl 7. P. 22–32.
61. *Bryleva E.Y., Brundin L.* Kynurenine pathway metabolites and suicidality //

- Neuropharmacology. 2017. V. 112. № Pt B. P. 324–330. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.01.034>
62. *Burggren W.* Epigenetic inheritance and its role in evolutionary biology: Re-evaluation and new perspectives // *Biology (Basel)*. 2016. V. 5. № 2. P. 24. <https://doi.org/10.3390/biology5020024>
  63. *Bürgin D., Anagnostopoulos D., Vitiello B. et al.* Impact of war and forced displacement on children's mental health-multilevel, needs-oriented, and trauma-informed approaches // *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2022. V. 31. № 6. P. 845–853. <https://doi.org/10.1007/s00787-022-01974-z>
  64. *Carter J.K., Quach B.C., Willis C. et al.* Identifying novel gene dysregulation associated with opioid overdose death: A meta-analysis of differential gene expression in human prefrontal cortex // *medRxiv (Preprint)*. 2024. <https://doi.org/10.1101/2024.01.12.24301153>
  65. *Casier K., Boivin A., Carré C., Teyssset L.* Environmentally-induced transgenerational epigenetic inheritance: implication of PIWI interacting RNAs // *Cells*. 2019. V. 8. № 9. P. 1108. <https://doi.org/10.3390/cells8091108>
  66. *Chagas L.A., Batista T.H., Ribeiro A. et al.* Anxiety-like behavior and neuroendocrine changes in offspring resulting from gestational post-traumatic stress disorder // *Behav Brain Res*. 2021. V. 399. P. 113026. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113026>
  67. *Cheng T.L., Wang Z., Liao Q. et al.* MeCP2 suppresses nuclear microRNA processing and dendritic growth by regulating the DGCR8/Drosha complex // *Dev. Cell*. 2014. V. 28. № 5. P. 547–560. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.01.032>
  68. *Childs G.V., Odle A.K., MacNicol M.C., MacNicol A.M.* The importance of leptin to reproduction // *Endocrinology*. 2021. V. 162. № 2. P. bqaa204. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa204>
  69. *Chou P.C., Huang Y.C., Yu S.* Mechanisms of epigenetic inheritance in post-traumatic stress disorder // *Life (Basel)*. 2024. V. 14. № 1. P. 98. <https://doi.org/10.3390/life14010098>
  70. *Čikoš Š., Czikková S., Chrenek P. et al.* Expression of adrenergic receptors in bovine and rabbit oocytes and preimplantation embryos // *Reprod Domest Anim*. 2014. V. 49. № 1. P. 92–100. <https://doi.org/10.1111/rda.12233>
  71. *Clapier C.R., Cairns B.R.* The biology of chromatin remodeling complexes // *Annu Rev Biochem*. 2009. V. 78. P. 273–304. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.062706.153223>
  72. *Coelho A.A., Lima-Bastos S., Gobira P.H., Lisboa S.F.* Endocannabinoid signaling and epigenetics modifications in the neurobiology of stress-related disorders // *Neuronal Signal*. 2023. V. 7. № 2. P. Ns20220034. <https://doi.org/10.1042/ns20220034>
  73. *Cohen S., Janicki-Deverts D., Miller G.E.* Psychological stress and disease // *Jama*. 2007. V. 298. № 14. P. 1685–1687. <https://doi.org/10.1001/jama.298.14.1685>
  74. *Crombach A., Rukundo-Zeller A.C., Vukojevic V. et al.* Differential methylation of linoleic acid pathway genes is associated with PTSD symptoms – a longitudinal study with Burundian soldiers returning from a war zone // *Transl Psychiatry*. 2024. V. 14. № 1. P. 32. <https://doi.org/10.1038/s41398-024-02757-7>
  75. *Davis L.L., Petrakis I.L., Pilkinton P.D. et al.* Comorbid alcohol use disorder and posttraumatic stress disorder: A proof-of-concept randomized placebo-controlled trial of buprenorphine and naltrexone combination treatment // *Alcohol Clin Exp Res (Hoboken)*. 2023. V. 47. № 9. P. 1756–1772. <https://doi.org/10.1111/acer.15155>
  76. *Denis H., Ndlovu M.N., Fuks F.* Regulation of mammalian DNA methyltransferases: A route to new mechanisms // *EMBO Rep*. 2011. V. 12. № 7. P. 647–656. <https://doi.org/10.1038/embor.2011.110>
  77. *Dias B.G., Ressler K.J.* Experimental evidence needed to demonstrate inter- and trans-generational effects of ancestral experiences in mammals // *Bioessays*. 2014. V. 36. № 10. P. 919–923. <https://doi.org/10.1002/bies.201400105>
  78. *Dionisio-García D.M., Genis-Mendoza A.D., González-Castro T.B. et al.* DNA methylation of genes involved in the HPA axis in presence of suicide behavior: a systematic review // *Brain Sci*. 2023. V. 13. № 4. P. 584. <https://doi.org/10.3390/brainsci13040584>
  79. *Dirven B.C.J., Homberg J.R., Kozicz T., Henckens M.* Epigenetic programming of the neuroendocrine stress response by adult life stress // *J. Mol. Endocrinol*. 2017. V. 59. № 1. P. R11–r31. <https://doi.org/10.1530/jme-17-0019>
  80. *Doan T.N.A., Cowley J.M., Phillips A.L. et al.* Imprinted gene alterations in the kidneys of growth restricted offspring may be mediated by a long non-coding RNA // *Epigenetics*. 2024. V.

19. № 1. P. 2294516. <https://doi.org/10.1080/15592294.2023.2294516>
81. *Dorović Đ., Lazarević V., Arandjelović J. et al.* Maternal deprivation causes CaMKII downregulation and modulates glutamate, norepinephrine and serotonin in limbic brain areas in a rat model of single prolonged stress // *J. Affect Disord.* 2024. V. 349. P. 286–296. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.01.087>
82. *Duncan L.E., Cooper B.N., Shen H.* Robust findings from 25 years of PTSD genetics research // *Curr Psychiatry Rep.* 2018. V. 20. № 12. P. 115. <https://doi.org/10.1007/s11920-018-0980-1>
83. *Etami Y., Lildharrie C., Manza P., Wang G.J., Volkow N.D.* Neuroimaging in adolescents: Post-traumatic stress disorder and risk for substance use disorders // *Genes (Basel).* 2023. V. 14. № 12. P. 2113. <https://doi.org/10.3390/genes14122113>
84. *Fraga M.F., Ballestar E., Paz M.F., Ropero S., Setien F. et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. V. 102. № 30. P. 10604–10609. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500398102>
85. *Gapp K., Jawaid A., Sarkies P., Bohacek J., Pelczar P. et al.* Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice // *Nat Neurosci.* 2014. V. 17. № 5. P. 667–669. <https://doi.org/10.1038/nn.3695>
86. *Gapp K., Soldado-Magraner S., Alvarez-Sánchez M. et al.* Early life stress in fathers improves behavioural flexibility in their offspring // *Nat Commun.* 2014. V. 5. P. 5466. <https://doi.org/10.1038/ncomms6466>
87. *Giridharan V.V., Thandavarayan R.A., Fries G.R. et al.* Newer insights into the role of miRNA a tiny genetic tool in psychiatric disorders: Focus on post-traumatic stress disorder // *Transl Psychiatry.* 2016. V. 6. № 11. P. e954. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.220>
88. *Glenn D.M., Beckham J.C., Feldman M.E., Kirby A.C., Hertzberg M.A. et al.* Violence and hostility among families of Vietnam veterans with combat-related posttraumatic stress disorder // *Violence Vict.* 2002. V. 17. № 4. P. 473–489. <https://doi.org/10.1891/vivi.17.4.473.33685>
89. *Gökbuget D., Blleloch R.* Epigenetic control of transcriptional regulation in pluripotency and early differentiation // *Development.* 2019. V. 146. № 19. P. dev164772. <https://doi.org/10.1242/dev.164772>
90. *Guffanti G., Galea S., Yan L. et al.* Genome-wide association study implicates a novel RNA gene, the lincRNA AC068718.1, as a risk factor for post-traumatic stress disorder in women // *Psychoneuroendocrinology.* 2013. V. 38. № 12. P. 3029–3038. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.08.014>
91. *Guillot C.R., Fanning J.R., Liang T.* An  $\alpha$ -synuclein gene (SNCA) polymorphism moderates the association of PTSD symptomatology with hazardous alcohol use, but not with aggression-related measures // *J. Anxiety Disord.* 2015. V. 30. P. 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2014.12.007>
92. *Gunter H.N., O'Toole B.I., Dadds M.M., Catts S.V.* Family emotional climate in childhood and risk of PTSD in adult children of Australian Vietnam veterans // *Psychiatry Res.* 2020. V. 294. P. 113509. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113509>
93. *Guo J., Orgeta V., Olivé I. et al.* Biomarkers associated with cognitive impairment in post-traumatic stress disorder: A systematic review of current evidence // *Ageing Res Rev.* 2024. V. 95. P. 102198. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102198>
94. *Hammond C.M., Strømme C.B., Huang H., Patel D.J., Groth A.* Histone chaperone networks shaping chromatin function // *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017. V. 18. № 3. P. 141–158. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.159>
95. *Herman J.L.* Complex PTSD: A syndrome in survivors of prolonged and repeated trauma // *Journal of Traumatic Stress.* 1992. V. 5. № 3. P. 377–391. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jts.2490050305>
96. *Hinchey L.M., Nashef R., Bazzi C., Gorski K., Javanbakht A.* The longitudinal impact of war exposure on psychopathology in Syrian and Iraqi refugee youth // *Int J. Soc Psychiatry.* 2023. V. 69. № 7. P. 1833–1836. <https://doi.org/10.1177/00207640231177829>
97. *Holesh J.E., Bass A.N., Lord M.* Physiology, Ovulation // *StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies: StatPearls Publishing LLC.* 2023.
98. *Holter K.M., Pierce B.E., Gould R.W.* Metabotropic glutamate receptor function and regulation of sleep-wake cycles // *Int. Rev. Neurobiol.* 2023. V. 168. P. 93–175. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2022.11.002>

99. *Horn S.R., Charney D.S., Feder A.* Understanding resilience: New approaches for preventing and treating PTSD // *Exp Neurol.* 2016. V. 284. № Pt B. P. 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.07.002>
100. *Howie H., Rijal C.M., Ressler K.J.* A review of epigenetic contributions to post-traumatic stress disorder // *Dialogues Clin Neurosci.* 2019. V. 21. № 4. P. 417–428. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2019.21.4/kressler>
101. *Huang J., Xu F., Yang L., Tuolihong L. et al.* Involvement of the GABAergic system in PTSD and its therapeutic significance // *Front Mol Neurosci.* 2023. V. 16. P. 1052288. <https://doi.org/doi:10.3389/fnmol.2023.1052288>
102. *Huang Y., Liu Q., Huang G., Wen J., Chen G.* Hypothalamic kisspeptin neurons regulates energy metabolism and reproduction under chronic stress // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022. V. 13. P. 844397. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.844397>
103. *Husmann D., Gozani O.* Histone lysine methyltransferases in biology and disease // *Nat Struct Mol Biol.* 2019. V. 26. № 10. P. 880–889. <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0298-7>
104. *Inoue C., Shawler E., Jordan C.H., Moore M.J., Jackson C.A.* Veteran and military mental health issues // *StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies: StatPearls Publishing LLC.* 2023.
105. *Johnson A.M., Teoh D., Jewett P. et al.* Genetic variants associated with post-traumatic stress symptoms in patients with gynecologic cancer // *Gynecol Oncol.* 2023. V. 170. P. 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2023.01.006>
106. *Kadriu B., Farmer C.A., Yuan P. et al.* The kynurenine pathway and bipolar disorder: Intersection of the monoaminergic and glutamatergic systems and immune response // *Mol Psychiatry.* 2021. V. 26. № 8. P. 4085–4095. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0589-8>
107. *Kaikkonen M.U., Lam M.T., Glass C.K.* Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics // *Cardiovasc Res.* 2011. V. 90. № 3. P. 430–440. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr097>
108. *Kang J.I., Kim T.Y., Choi J.H., So H.S., Kim S.J.* Allele-specific DNA methylation level of FKBP5 is associated with post-traumatic stress disorder // *Psychoneuroendocrinology.* 2019. V. 103. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.12.226>
109. *Karam E.G., Fayyad J.A., Farhat C. et al.* Role of childhood adversities and environmental sensitivity in the development of post-traumatic stress disorder in war-exposed Syrian refugee children and adolescents // *Br. J. Psychiatry.* 2019. V. 214. № 6. P. 354–360. <https://doi.org/10.1192/bjp.2018.272>
110. *Kessler R.C., Berglund P., Demler O. et al.* Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication // *Arch Gen Psychiatry.* 2005. V. 62. № 6. P. 593–602. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.6.593>
111. *Kibaly C., Xu C., Cahill C.M., Evans C.J., Law P.Y.* Non-nociceptive roles of opioids in the CNS: opioids' effects on neurogenesis, learning, memory and affect // *Nat Rev Neurosci.* 2019. V. 20. № 1. P. 5–18. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0092-2>
112. *Kim G.S., Smith A.K., Nievergelt C.M., Uddin M.* Neuroepigenetics of post-traumatic stress disorder // *Prog. Mol. Biol. Transl Sci.* 2018. V. 158. P. 227–253. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2018.04.001>
113. *Kim Y.K., Amidfar M., Won E.* A review on inflammatory cytokine-induced alterations of the brain as potential neural biomarkers in post-traumatic stress disorder // *Prog. Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2019. V. 91. P. 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.06.008>
114. *Klarić M., Francisković T., Klarić B. et al.* Psychological problems in children of war veterans with posttraumatic stress disorder in Bosnia and Herzegovina: cross-sectional study // *Croat Med. J.* 2008. V. 49. № 4. P. 491–498. <https://doi.org/10.3325/cmj.2008.4.491>
115. *Klengel T., Dias B.G., Ressler K.J.* Models of intergenerational and transgenerational transmission of risk for psychopathology in mice // *Neuropsychopharmacology.* 2016. V. 41. № 1. P. 219–231. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.249>
116. *Kmita H., Pinna G., Lushchak V.I.* Potential oxidative stress related targets of mitochondria-focused therapy of PTSD // *Front Physiol.* 2023. V. 14. P. 1266575. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1266575>
117. *Kravitz S.N., Gregg C.* New subtypes of allele-specific epigenetic effects: Implications for brain development, function and disease // *Curr Opin Neurobiol.* 2019. V. 59. P. 69–78. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.04.012>

118. *Krešić Ćorić M., Klarić M., Petrov B., Mihić N.* Psychological and behavioral problems in children of war veterans with post traumatic stress disorder // *The European Journal of Psychiatry*. 2016. V. 30. P. 219–230.
119. *Kwon W.S., Park Y.J., Kim Y.H. et al.* Vasopressin effectively suppresses male fertility // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 1. P. e54192. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054192>
120. *Labonté B., Azoulay N., Yerko V., Turecki G., Brunet A.* Epigenetic modulation of glucocorticoid receptors in posttraumatic stress disorder // *Transl Psychiatry*. 2014. V. 4. № 3. P. e368. <https://doi.org/10.1038/tp.2014.3>
121. *Lago T.R., Brownstein M.J., Page E. et al.* The novel vasopressin receptor (V1aR) antagonist SRX246 reduces anxiety in an experimental model in humans: a randomized proof-of-concept study // *Psychopharmacology (Berl)*. 2021. V. 238. № 9. P. 2393–2403. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05861-4>
122. *Lambert J.E., Holzer J., Hasbun A.* Association between parents' PTSD severity and children's psychological distress: A meta-analysis // *J. Trauma Stress*. 2014. V. 27. № 1. P. 9–17. <https://doi.org/10.1002/jts.21891>
123. *Lee H., King A.P., Li Y., Seng J.S.* Oxytocin receptor gene, post-traumatic stress disorder and dissociation in a community sample of European American women // *BJPsych Open*. 2022. V. 8. № 4. P. e104. <https://doi.org/10.1192/bjo.2022.74>
124. *Lee H.S., Kwon A., Lee S.H.* Oxytocin receptor genes moderate BDNF epigenetic methylation by childhood trauma // *J. Affect Disord*. 2022. V. 306. P. 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2022.03.020>
125. *Leen-Feldner E.W., Feldner M.T., Knapp A. et al.* Offspring psychological and biological correlates of parental posttraumatic stress: review of the literature and research agenda // *Clin Psychol Rev*. 2013. V. 33. № 8. P. 1106–1133. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2013.09.001>
126. *Lewis C.R., Tafur J., Spencer S. et al.* Pilot study suggests DNA methylation of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) is associated with MDMA-assisted therapy treatment response for severe PTSD // *Front Psychiatry*. 2023. V. 14. P. 959590. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.959590>
127. *Li M., Wang X., Yang L. et al.* Acupuncture improves learning and memory ability of posttraumatic stress disorder model rats through epigenetic regulation of microglial phosphatidylinositol 3-kinase pathway // *Technol. Health. Care*. 2023. V. 31. № S1. P. 409–421. <https://doi.org/10.3233/thc-236035>
128. *Li Z., Han K., Zhang D. et al.* The role of long noncoding RNA in traumatic brain injury // *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2019. V. 15. P. 1671–1677. <https://doi.org/10.2147/ndt.S206624>
129. *Liao J., Szabó P.E.* Role of transcription in imprint establishment in the male and female germ lines // *Epigenomics*. 2023. <https://doi.org/10.2217/epi-2023-0344>
130. *Ling X., Liu X., Jiang S., Fan L., Ding J.* The dynamics of three-dimensional chromatin organization and phase separation in cell fate transitions and diseases // *Cell Regen*. 2022. V. 11. № 1. P. 42. <https://doi.org/10.1186/s13619-022-00145-4>
131. *Liu M.N., Tian X.Y., Fang T. et al.* Insights into the involvement and therapeutic target potential of the dopamine system in the posttraumatic stress disorder // *Mol. Neurobiol*. 2023. V. 60. № 7. P. 3708–3723. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03312-z>
132. *López L., Lozano K., Cruz J. et al.* Measurement of neuropeptide Y with molecularly imprinted polypyrrole on carbon fiber microelectrodes // *Neuropeptides*. 2024. V. 104. P. 102413. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2024.102413>
133. *Lushchak O., Strilbytska O., Koliada A., Storey K.B.* An orchestrating role of mitochondria in the origin and development of post-traumatic stress disorder // *Front Physiol*. 2022. V. 13. P. 1094076. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1094076>
134. *Maity S., Abbaspour R., Nahabedian D., Connor S.A.* Norepinephrine, beyond the Synapse: Coordinating Epigenetic Codes for Memory // *Int J. Mol. Sci*. 2022. V. 23. № 17. <https://doi.org/10.3390/ijms23179916>
135. *Marcolini S., Rojczyk P., Seitz-Holland J. et al.* Posttraumatic stress and traumatic brain injury: Cognition, behavior, and neuroimaging markers in Vietnam veterans // *J. Alzheimers Dis*. 2023. V. 95. № 4. P. 1427–1448. <https://doi.org/10.3233/jad-221304>
136. *Marra P.S., Seki T., Nishizawa Y. et al.* Genome-wide DNA methylation analysis in female veterans with military sexual trauma and comorbid PTSD/MDD // *J. Affect*

- Disord. 2024. V. 351. P. 624–630. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.01.241>
137. *Martsenkovskiy D., Karatzias T., Hyland P. et al.* Parent-reported posttraumatic stress reactions in children and adolescents: Findings from the mental health of parents and children in Ukraine study // *Psychol Trauma*. 2023. <https://doi.org/10.1037/tra0001583>
  138. *Mehta D., Bruenig D., Carrillo-Roa T. et al.* Genome-wide DNA methylation analysis in combat veterans reveals a novel locus for PTSD // *Acta Psychiatr Scand*. 2017. V. 136. № 5. P. 493–505. <https://doi.org/10.1111/acps.12778>
  139. *Michalek J., Lisi M., Binetti N. et al.* War-related trauma linked to increased sustained attention to threat in children // *Child Dev*. 2022. V. 93. № 4. P. 900–909. <https://doi.org/10.1111/cdev.13739>
  140. *Miller M.W.* Leveraging genetics to enhance the efficacy of PTSD pharmacotherapies // *Neurosci Lett*. 2020. V. 726. P. 133562. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.04.039>
  141. *Molnar B.E., Buka S.L., Kessler R.C.* Child sexual abuse and subsequent psychopathology: results from the National Comorbidity Survey // *Am J. Public Health*. 2001. V. 91. № 5. P. 753–760. <https://doi.org/10.2105/ajph.91.5.753>
  142. *Montgomery K.R., Bridi M.S., Folts L.M. et al.* Chemogenetic activation of CRF neurons as a model of chronic stress produces sex-specific physiological and behavioral effects // *Neuropsychopharmacology*. 2024. V. 49. № 2. P. 443–454. <https://doi.org/10.1038/s41386-023-01739-5>
  143. *Moodley A., Womersley J.S., Swart P.C. et al.* A network analysis investigating the associations between posttraumatic stress symptoms, markers of inflammation and metabolic syndrome // *J. Psychiatr Res*. 2023. V. 165. P. 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2023.07.018>
  144. *Moog N.K., Buss C., Entringer S. et al.* Maternal exposure to childhood trauma is associated during pregnancy with placental-fetal stress physiology // *Biol. Psychiatry*. 2016. V. 79. № 10. P. 831–839. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.08.032>
  145. *Muhammad A., Forcados G.E., Sani H. et al.* Epigenetic modifications associated with genes implicated in cytokine storm: The potential biotherapeutic effects of vitamins and minerals in COVID-19 // *J. Food Biochem*. 2022. V. 46. № 5. P. e14079. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14079>
  146. *Mukadam A.A., Chester J.A.* Line- and Sex-dependent effects of juvenile stress on contextual fear- and anxiety-related behavior in high- and low-alcohol-preferring mouse lines // *Behav Brain Res*. 2024. P. 114899. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.114899>
  147. *Naz R.K., Sellamuthu R.* Receptors in spermatozoa: Are they real? // *J. Androl*. 2006. V. 27. № 5. P. 627–636. <https://doi.org/10.2164/jandrol.106.000620>
  148. *Nikitina V.A., Zakharova M.V., Trofimov A.N. et al.* Neonatal exposure to bacterial lipopolysaccharide affects behavior and expression of ionotropic glutamate receptors in the hippocampus of adult rats after psychogenic Trauma // *Biochemistry (Mosc)*. 2021. V. 86. № 6. P. 761–772. <https://doi.org/10.1134/s0006297921060134>
  149. *Núñez-Rios D.L., Martínez-Magaña J.J., Nagamatsu S.T. et al.* Cross-species convergence of brain transcriptomic and epigenomic findings in posttraumatic stress disorder: a systematic review // *Complex Psychiatry*. 2023. V. 9. № 1–4. P. 100–118. <https://doi.org/10.1159/000529536>
  150. *O'Connell C.J., Reeder E.L., Hymore J.A. et al.* Transcriptomic dynamics governing serotonergic dysregulation in the dorsal raphe nucleus following mild traumatic brain injury // *Exp. Neurol*. 2024. V. 374. P. 114695. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2024.114695>
  151. *Ordyan N.E., Shigalugova E.D., Malysheva O.V., Pivina S.G., Akulova V.K. et al.* Transgenerational effects of prenatal stress on memory and expression of the insulin-like growth factor 2 gene in the offspring brain // *J. Evol Biochem Phys*. 2023. V. 59. № 5. P. 1526–1535. <https://doi.org/10.1134/S002209302305006X>
  152. *O'Toole B.I., Burton M.J., Rothwell A. et al.* Intergenerational transmission of post-traumatic stress disorder in Australian Vietnam veterans' families // *Acta Psychiatr Scand*. 2017. V. 135. № 5. P. 363–372. <https://doi.org/10.1111/acps.12685>
  153. *Ozer E.J., Best S.R., Lipsey T.L., Weiss D.S.* Predictors of posttraumatic stress disorder and symptoms in adults: a meta-analysis // *Psycho. Bull*. 2003. V. 129. № 1. P. 52–73. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.129.1.52>

154. *Pape J.C., Binder E.B.* Psychological trauma as risk for delayed psychiatric disorders: epigenetic mechanisms // *Nervenarzt*. 2014. V. 85. № 11. P. 1382–1389. <https://doi.org/10.1007/s00115-014-4085-8>
155. *Patel A.B., He Y., Radhakrishnan I.* Histone acetylation and deacetylation – Mechanistic insights from structural biology // *Gene*. 2024. V. 890. P. 147798. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2023.147798>
156. *Patel R.S., Krause-Hauch M., Kenney K. et al.* Long noncoding RNA VLDLR-AS1 levels in serum correlate with combat-related chronic mild traumatic brain injury and depression symptoms in US veterans // *Int J. Mol. Sci*. 2024. V. 25. № 3. P. 1473. <https://doi.org/10.3390/ijms25031473>
157. *Patkin E.L.* Epigenetic mechanisms for primary differentiation in mammalian embryos // *Int Rev Cytol*. 2002. V. 216. P. 81-129. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(02\)16004-9](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(02)16004-9)
158. *Peedicayil J.* Chapter 15. Non-coding RNAs and psychiatric disorders. In: *Epigenetics in Psychiatry (Second Edition)* / by ed. Peedicayil J. et al. Academic Press. 2021. P. 321–333.
159. *Peña C.J., Kronman H.G., Walker D.M. et al.* Early life stress confers lifelong stress susceptibility in mice via ventral tegmental area OTX2 // *Science*. 2017. V. 356. № 6343. P. 1185–1188. <https://doi.org/10.1126/science.aan4491>
160. *Perez M.F., Lehner B.* Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals // *Nat Cell. Biol*. 2019. V. 21. № 2. P. 143–151. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0242-9>
161. *Pervanidou P., Kolaitis G., Charitaki S. et al.* The natural history of neuroendocrine changes in pediatric posttraumatic stress disorder (PTSD) after motor vehicle accidents: progressive divergence of noradrenaline and cortisol concentrations over time // *Biol. Psychiatry*. 2007. V. 62. № 10. P. 1095–1102. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.02.008>
162. *Phasuk S., Pairojana T., Suresh P. et al.* Enhanced contextual fear memory in peroxiredoxin 6 knockout mice is associated with hyperactivation of MAPK signaling pathway // *Mol. Brain*. 2021. V. 14. № 1. P. 42. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00754-1>
163. *Pivina S.G., Rakitskaya V.V., Smolenskii I.V., Akulova V.K., Ordyan N.E.* Modification of expression of neurohormones in hypothalamus of prenatally stressed male rats in model of posttraumatic stress disorder // *J. Evol Biochem Phys*. 2014. V. 50. № 4. P. 345–352. <https://doi.org/10.1134/S0022093014040073>
164. *Porgali Zayman E., Bay Karabulut A., Özdemir S., Kartalci Ş.* Oxytocin and vasopressin blood levels in people with post-traumatic stress disorder // *Alpha Psychiatry*. 2023. V. 24. № 5. P. 180–185. <https://doi.org/10.5152/alphapsychiatry.2023.21628>
165. *Prajapati S.K., Ahmed S., Rai V., Gupta S.C., Krishnamurthy S.* Suvorexant improves mitochondrial dynamics with the regulation of orexinergic and mTOR activation in rats exhibiting PTSD-like symptoms // *J. Affect Disord*. 2024. V. 350. P. 24–38. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.01.045>
166. *Qi P., Huang M., Ren X. et al.* Identification of potential biomarkers and therapeutic targets related to post-traumatic stress disorder due to traumatic brain injury // *Eur J. Med Res*. 2024. V. 29. № 1. P. 44. <https://doi.org/10.1186/s40001-024-01640-x>
167. *Qureshi I.A., Mehler M.F.* Impact of nuclear organization and dynamics on epigenetic regulation in the central nervous system: Implications for neurological disease states // *Ann NY. Acad Sci*. 2010. V. 1204 Suppl. № Suppl. P. E20-37. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05718.x>
168. *Ravi M., Stevens J.S., Michopoulos V.* Neuroendocrine pathways underlying risk and resilience to PTSD in women // *Front Neuroendocrinol*. 2019. V. 55. P. 100790. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.100790>
169. *Redican E., Sachser C., Pfeiffer E. et al.* Validation of the Ukrainian caregiver-report version of the child and adolescent trauma screen (CATS) in children and adolescents in Ukraine // *Psychol. Trauma*. 2023. <https://doi.org/10.1037/tra0001570>
170. *Riser M., Norrholm S.D.* Pituitary adenylate cyclase activating peptide and post-traumatic stress disorder: From bench to bedside // *Front Psychiatry*. 2022. V. 13. P. 861606. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.861606>
171. *Rodgers A.B., Bale T.L.* Germ cell origins of posttraumatic stress disorder risk: The transgenerational impact of parental stress experience // *Biol. Psychiatry*. 2015. V. 78. № 5. P. 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.018>

172. *Rodgers A.B., Morgan C.P., Leu N.A., Bale T.L.* Transgenerational epigenetic programming via sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*. 2015. V. 112. № 44. P. 13699-13704. <https://doi.org/10.1073/pnas.1508347112>
173. *Grabe H.J.* Paternal transmission of early life traumatization through epigenetics: Do fathers play a role? // *Med. Hypotheses*. 2017. V. 109. P. 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2017.09.011>
174. *Rudzki S.* Is PTSD an evolutionary survival adaptation initiated by unrestrained cytokine signaling and maintained by epigenetic change? // *Mil. Med.* 2022. <https://doi.org/10.1093/milmed/usac095>
175. *Sabban E.L., Serova L.I., Newman E., Aisenberg N., Akirav I.* Changes in gene expression in the locus coeruleus-amygdala circuitry in inhibitory avoidance PTSD model // *Cell Mol Neurobiol*. 2018. V. 38. № 1. P. 273–280. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0548-3>
176. *Safari-Alighiarloo N., Taghizadeh M., Rezaei-Tavirani M., Goliaei B., Peyvandi A.A.* Protein-protein interaction networks (PPI) and complex diseases // *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2014. V. 7. № 1. P. 17–31.
177. *Sartor C.E., Grant J.D., Lynskey M.T. et al.* Common heritable contributions to low-risk trauma, high-risk trauma, posttraumatic stress disorder, and major depression // *Arch. Gen Psychiatry*. 2012. V. 69. № 3. P. 293–299. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.1385>
178. *Sartor C.E., McCutcheon V.V., Pommer N.E. et al.* Common genetic and environmental contributions to post-traumatic stress disorder and alcohol dependence in young women // *Psychol. Med*. 2011. V. 41. № 7. P. 1497–1505. <https://doi.org/10.1017/s0033291710002072>
179. *Scherma M., Masia P., Satta V. et al.* Brain activity of anandamide: A rewarding bliss? // *Acta Pharmacol Sin*. 2019. V. 40. № 3. P. 309–323. <https://doi.org/10.1038/s41401-018-0075-x>
180. *Schreiber A.L., Lu Y.L., Baynes B.B., Richardson H.N., Gilpin N.W.* Corticotropin-releasing factor in ventromedial prefrontal cortex mediates avoidance of a traumatic stress-paired context // *Neuropharmacology*. 2017. V. 113. № Pt A. P. 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.05.008>
181. *Selimbasic Z., Sinanovic O., Avdibegovic E., Brkic M., Hamidovic J.* Behavioral problems and emotional difficulties at children and early adolescents of the veterans of war with post-traumatic stress disorder // *Med. Arch*. 2017. V. 71. № 1. P. 56–61. <https://doi.org/10.5455/medarh.2017.71.56-61>
182. *Shah S.B., Peddada T.N., Song C. et al.* Exome-wide association study of treatment-resistant depression suggests novel treatment targets // *Sci. Rep*. 2023. V. 13. № 1. P. 12467. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38984-z>
183. *Shalaginova I.G., Tuchina O.P., Turkin A.V. et al.* The effect of long-term emotional and painful stress on the expression of proinflammatory cytokine genes in rats with high and low excitability of the nervous system // *J. Evol Biochem Physiol*. 2023. V. 59. № 2. P. 642–652. <https://doi.org/10.1134/s0022093023020291>
184. *Sheerin C.M., Lind M.J., Bountress K.E., Nugent N.R., Amstadter A.B.* The genetics and epigenetics of PTSD: overview, recent advances, and future directions // *Curr Opin Psychol*. 2017. V. 14. P. 5–11. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2016.09.003>
185. *Short A.K., Yeshurun S., Powell R. et al.* Exercise alters mouse sperm small noncoding RNAs and induces a transgenerational modification of male offspring conditioned fear and anxiety // *Transl. Psychiatry*. 2017. V. 7. № 5. P. e1114. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.82>
186. *Siegmund A., Dahlhoff M., Habersetzer U. et al.* Maternal inexperience as a risk factor of innate fear and PTSD-like symptoms in mice // *J. Psychiatr Res*. 2009. V. 43. № 14. P. 1156–1165. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.02.003>
187. *Sipos E., Török B., Barna I., Engelmann M., Zelena D.* Vasopressin and post-traumatic stress disorder // *Stress*. 2020. V. 23. № 6. P. 732–745. <https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1826430>
188. *Skinner M.K.* What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2 // *Reprod Toxicol*. 2008. V. 25. № 1. P. 2–6. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.09.001>
189. *M.M.* Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of sperm epimutations promote genetic mutations // *Epigenetics*. 2015. V. 10. № 8. P. 762–771. <https://doi.org/10.1080/15592294.2015.1062207>
190. *Slone M., Mann S.* Effects of war, terrorism and armed conflict on young children: A systematic review // *Child Psychiatry Hum Dev*. 2016. V. 47. № 6. P. 950–965. <https://doi.org/10.1007/s10578-016-0626-7>

191. War exposure, post-traumatic stress symptoms and hair cortisol concentrations in Syrian refugee children // *Mol. Psychiatry*. 2023. V. 28. № 2. P. 647–656. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01859-2>
192. *Smoller J.W.* The genetics of stress-related disorders: PTSD, depression, and anxiety disorders // *Neuropsychopharmacology*. 2016. V. 41. № 1. P. 297–319. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.266>
193. *Suarez-Jimenez B., Lazarov A., Zhu X. et al.* Intrusive traumatic re-experiencing domain: functional connectivity feature classification by the ENIGMA PTSD consortium // *Biol. Psychiatry Glob Open Sci*. 2024. V. 4. № 1. P. 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.bpsgos.2023.05.006>
194. *Sun Y.M., Chen Y.Q.* Principles and innovative technologies for decrypting noncoding RNAs: From discovery and functional prediction to clinical application // *J. Hematol Oncol*. 2020. V. 13. № 1. P. 109. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00945-8>
195. *Švorcová J.* Transgenerational epigenetic inheritance of traumatic experience in mammals // *Genes (Basel)*. 2023. V. 14. № 1. P. 120. <https://doi.org/10.3390/genes14010120>
196. *Szklarczyk K., Korostynski M., Golda S., Solecki W., Przewlocki R.* Genotype-dependent consequences of traumatic stress in four inbred mouse strains // *Genes Brain Behav*. 2012. V. 11. № 8. P. 977–985. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2012.00850.x>
197. *Tando Y., Matsui Y.* Inheritance of environment-induced phenotypic changes through epigenetic mechanisms // *Environ Epigenet*. 2023. V. 9. № 1. P. dvad008. <https://doi.org/10.1093/eep/dvad008>
198. *Tissen I.Y., Chepik P., Lebedev A. et al.* Conditioned place preference of kisspeptin-10 // *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2021. V. 19. P. 47–53. <https://doi.org/10.17816/RCF19147-53>
199. *Tonsfeldt K.J., Cui L.J., Lee J. et al.* Female fertility does not require Bmal1 in suprachiasmatic nucleus neurons expressing arginine vasopressin, vasoactive intestinal peptide, or neuromedin-S // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022. V. 13. P. 956169. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.956169>
200. *Toomey R., Alpern R.E., White A.J., Li X., Reda D.J. et al.* Physical health, behavioral and emotional functioning in children of gulf war veterans // *Life Sci*. 2021. V. 282. P. 119777. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119777>
201. *Tseilikman V.E., Tseilikman O.B., Pashkov A.A. et al.* Mechanisms of susceptibility and resilience to PTSD: role of dopamine metabolism and BDNF expression in the hippocampus // *Int J. Mol Sci*. 2022. V. 23. № 23. P. 14575. <https://doi.org/10.3390/ijms232314575>
202. *Tucci V., Isles A.R., Kelsey G., Ferguson-Smith A.C.* Genomic imprinting and physiological processes in mammals // *Cell*. 2019. V. 176. № 5. P. 952–965. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.01.043>
203. *Uddin M., Ratanatharathorn A., Armstrong D. et al.* Epigenetic meta-analysis across three civilian cohorts identifies NRG1 and HGS as blood-based biomarkers for post-traumatic stress disorder // *Epigenomics*. 2018. V. 10. № 12. P. 1585–1601. <https://doi.org/10.2217/epi-2018-0049>
204. *Vaido A.I., Dyuzhikova N.A., Shiryayeva N.V. et al.* Systemic control of the molecular, cell, and epigenetic mechanisms of long-lasting consequences of stress // *Russian Journal of Genetics*. 2009. V. 45. № 3. P. 298–303. <https://doi.org/10.1134/S1022795409030065>
205. *Varela R.B., Cararo J.H., Tye S.J. et al.* Contributions of epigenetic inheritance to the predisposition of major psychiatric disorders: Theoretical framework, evidence, and implications // *Neurosci Biobehav Rev*. 2022. V. 135. P. 104579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104579>
206. *Vertii A.* Stress as a chromatin landscape architect // *Front Cell Dev Biol*. 2021. V. 9. P. 790138. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.790138>
207. *Watson C.G., Kucala T., Manifold V.* A cross-validation of the Keane and Penk MMPI scales as measures of post-traumatic stress disorder // *J. Clin Psychol*. 1986. V. 42. № 5. P. 727–732. [https://doi.org/10.1002/1097-4679\(198609\)42:5<727::aid-jclp2270420508>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/1097-4679(198609)42:5<727::aid-jclp2270420508>3.0.co;2-4)
208. *Weiss E.M., Parson W., Niederstätter H., Marksteiner J., Lampe A.* Genetics of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD) // *Psychother Psychosom Med. Psychol*. 2019. V. 69. № 7. P. 266–274. <https://doi.org/10.1055/a-0634-6625>
209. *Wieck A., Grassi-Oliveira R., Hartmann do Prado C., Teixeira A.L., Bauer M.E.*

- Neuroimmunoendocrine interactions in post-traumatic stress disorder: focus on long-term implications of childhood maltreatment // *Neuroimmunomodulation*. 2014. V. 21. № 2-3. P. 145–151. <https://doi.org/10.1159/000356552>
210. *Wittekind C.E., Jelinek L., Kellner M., Moritz S., Muhtz C.* Intergenerational transmission of biased information processing in posttraumatic stress disorder (PTSD) following displacement after World War II // *J. Anxiety Disord.* 2010. V. 24. № 8. P. 953–957. <https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2010.06.023>
211. *World Health Organization.* International statistical classification of diseases and related health problems 10th Revision (ICD-10). Chapter V. Mental and behavioural disorders (F00-F99). Neurotic, stress-related and somatoform disorders (F40-F48). 2019. <https://icd.who.int/browse10/2019/en#/F43.0> (accessed: 14.01.2024).
212. *Xiao B., Han F., Shi Y.* Administration of moclobemide facilitates fear extinction and attenuates anxiety-like behaviors by regulating synaptic-associated proteins in a rat model of post-traumatic stress disorder // *Synapse*. 2020. V. 74. № 6. P. e22146. <https://doi.org/10.1002/syn.22146>
213. *Xie Q., Kang Y., Zhang C. et al.* The Role of kisspeptin in the control of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis and reproduction // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022. V. 13. P. 925206. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.925206>
214. *Yaeger J.D.W., Krupp K.T., Summers T.R., Summers C.H.* Contextual generalization of social stress learning is modulated by orexin receptors in basolateral amygdala // *Neuropharmacology*. 2022. V. 215. P. 109168. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109168>
215. *Yehuda R., Bell A., Bierer L.M., Schmeidler J.* Maternal, not paternal, PTSD is related to increased risk for PTSD in offspring of Holocaust survivors // *J. Psychiatr Res.* 2008. V. 42. № 13. P. 1104–1111. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2008.01.002>
216. *Yehuda R., Daskalakis N.P., Bierer L.M. et al.* Holocaust exposure induced intergenerational effects on FKBP5 methylation // *Biol. Psychiatry*. 2016. V. 80. № 5. P. 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.08.005>
217. *Yehuda R., Daskalakis N.P., Desarnaud F. et al.* Epigenetic biomarkers as predictors and correlates of symptom improvement following psychotherapy in combat veterans with PTSD // *Front Psychiatry*. 2013. V. 4. P. 118. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2013.00118>
218. *Yehuda R., Daskalakis N.P., Lehrner A. et al.* Influences of maternal and paternal PTSD on epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor gene in Holocaust survivor offspring // *Am J. Psychiatry*. 2014. V. 171. № 8. P. 872–880. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2014.13121571>
219. *Yehuda R., Daskalakis N.P., Lehrner A. et al.* Influences of maternal and paternal PTSD on epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor gene in Holocaust survivor offspring // *Am J. Psychiatry*. 2014. V. 171. № 8. P. 872–880. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2014.13121571>
220. *Yehuda R., Schmeidler J., Giller E.L., Siever L.J., Binder-Brynes K.* Relationship between posttraumatic stress disorder characteristics of Holocaust survivors and their adult offspring // *Am J. Psychiatry*. 1998. V. 155. № 6. P. 841–843. <https://doi.org/10.1176/ajp.155.6.841>
221. *Zhang X., Han Y., Liu X. et al.* Assessment of genetic variants in D2 dopamine receptor (DRD2) gene as risk factors for post-traumatic stress disorder (PTSD) and major depressive disorder (MDD): A systematic review and meta-analysis // *J. Affect Disord.* 2023. V. 328. P. 312–323. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2023.02.001>

## Post-Traumatic Stress Disorder: Molecular Mechanisms of the Intergenerational and Transgenerational Inheritance

E. L. Patkin<sup>a, \*</sup>, I. O. Suchkova<sup>a, \*\*</sup>, S. G. Tsikunov<sup>a, \*\*\*</sup>, H. A. Sofronov<sup>a, b, \*\*\*\*</sup>

<sup>a</sup> *Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, 197022 Russia*

<sup>b</sup> *Military Medical Academy named after. С.М. Kirov of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, 194044 Russia*

\*E-mail: [elp44@mail.ru](mailto:elp44@mail.ru)

\*\*E-mail: [irsuchkova@mail.ru](mailto:irsuchkova@mail.ru)

\*\*\*E-mail: [secikunov@yandex.ru](mailto:secikunov@yandex.ru)

\*\*\*\*E-mail: [gasofronov@mail.ru](mailto:gasofronov@mail.ru)

**Abstract** – Post-traumatic stress disorder is a mental disorder that is closely associated with dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and for its development is required the experience of a traumatic event that causes negative emotions and memories that persist for quite a long time. The likelihood of development of post-traumatic stress disorder is influenced both environmental factors, and genetic and epigenetic characteristics of the body. In this case epigenetic modifications act as dynamic biomarkers (“nanotags”) of the impact of the environment on the genome (epigenome), which can, under certain conditions, disappear or remain not only in an individual directly exposed to psychogenic trauma, but also transmitted over a number of generations. Review focuses on the possible mechanisms of intergenerational and transgenerational inheritance of the biological effects of post-traumatic and stress-related disorders.

**Keywords:** traumatic stress, PTSD, intergenerational inheritance, transgenerational inheritance, DNA methylation, histone modifications, ncRNA, chromatin remodeling.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО КОНФЛИКТА В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

© 2024 г. Н. Н. Кудрявцева

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

\*E-mail: n.n.kudryavtseva@gmail.com

Поступила в редакцию 25.04. 2024 г.

После доработки 18.07.2024 г.

Принята к публикации 19.08.2024 г.

Многолетними исследованиями (1987–2024 гг.) показано, что модель хронического социального конфликта с первоначальным названием “модель сенсорного контакта” может быть использована для моделирования различных патологических состояний, развивающихся у мышей под влиянием хронического социального стресса, что позволяет исследовать нейрофизиологические и нейромолекулярные механизмы на разных стадиях развития болезни, в частности, повышенной тревожности, депрессивноподобного состояния, а также состояния по типу психоза, формирующихся у самцов мышей линии C57BL/6 под влиянием негативного или позитивного социального опыта в агонистических взаимодействиях. В фармакологических исследованиях у мышей с патологической симптоматикой появляется возможность изучать: лечебные и протекторные эффекты препаратов на разных стадиях развития болезни, эффективность лечения, способы предупреждения рецидивов болезни. Модель позволяет разрабатывать подходы к фармакогеномной терапии, а также выявлять периферические маркеры патологических состояний.

**Ключевые слова:** модель хронического социального конфликта, моделирование психонейропатологий, скрининг психотропных препаратов, мыши.

DOI: 10.31857/S0301179824040027 EDN: ANEUKQ

Модель хронического социального конфликта [17, 19, 72] с первоначальным названием “модель сенсорного контакта” [16, 55, 59] открыла перспективы ее применения в исследовании механизмов агонистического поведения у самцов мышей и моделировании различных патологических состояний, развивающихся у животных под влиянием хронического социального стресса. Модель получила распространение в оригинальной российской версии [17, 19, 72] и в упрощенной и сокращенной модификации модели американских исследователей [52].

Первые исследования были посвящены разработке модели депрессивноподобного состояния у самцов мышей линии C57BL/6 под влиянием хронического социального стресса [62, 66]. В рамках этой же модели появилась возможность изучать патологические состояния у мышей по типу психоза с признаками аддикции, формируемой под влиянием повторного опыта агрессии в ежедневных агонистических взаимодействиях [56, 57, 60]. Использование мышей других линий также приводило к

изменению социального поведения и, как следствие, к развитию других наследственно обусловленных патологических состояний [7, 15, 54].

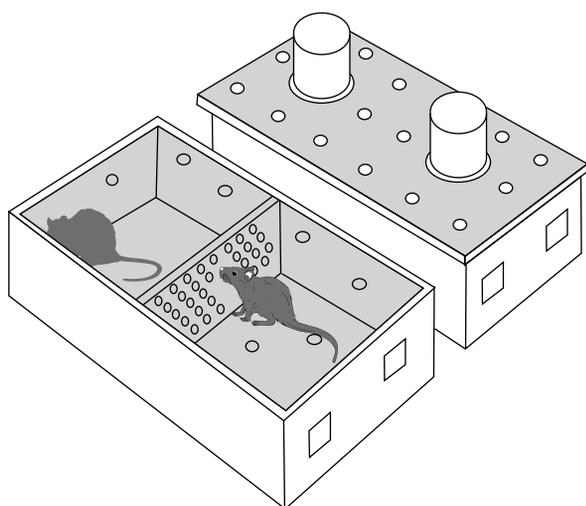
В настоящее время модификации модели с аббревиатурой CSDS (chronic social defeat stress) используются в различных лабораториях зарубежья для исследования в основном молекулярных и клеточных изменений в мозге у мышей с развитием депрессивноподобного состояния (по данным PubMed – более 1200 статей). Однако оригинальная версия модели [17, 19, 72] предоставляет много других возможностей и перспектив использования в медико-биологических исследованиях.

### ТЕХНИКА МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО КОНФЛИКТА

Во всех многолетних исследованиях модель применялась единообразно. В эксперименте используются половозрелые самцы мышей, проживавшие по 8–10 особей в стандартных пластиковых клетках размером 36 × 23 × 12 см – групповые животные

[55, 59, 72]. Оптимальный возраст 2,5 мес. Максимально сходных по массе самцов одной и той же линии из разных клеток попарно помещают в экспериментальные клетки размером  $28 \times 14 \times 10$  см, разделенные на два равных отсека прозрачной перегородкой с отверстиями, позволяющей животным видеть, слышать и воспринимать запахи друг друга, но предотвращающей физический контакт (условия сенсорного контакта) (рис. 1).

Тестирование поведения начинается через 2–3 дня после адаптации животных к новым условиям содержания и сенсорного знакомства друг с другом. Затем на время тестирования во второй половине дня (13:00–15:00 час) крышку клетки заменяют на прозрачное оргстекло, необходимое для наблюдения за животными, и через 5 мин (период активации и привыкания к новому режиму освещения) перегородку убирают на 10 мин, что приводит к агонистическому взаимодействию между самцами. Проявленный в первых тестах (в течение первых 3х дней) опыт побед или поражений при агрессивных столкновениях с одним и тем же партнером закрепляют в последующем при повторных столкновениях (тестах) с партнером противоположного типа поведения. Для этого после теста побежденного самца помещают в незнакомую клетку на чужую подстилку с другим агрессивным самцом за перегородкой. Самцы, побеждающие в межсамцовых конфронтациях, всегда остаются в своем отсеке. Как правило, перегородку возвращают на место, если интенсивные атаки со стороны агрессивного самца длятся более 3х мин, в некоторых случаях меньше, чтобы не допустить физического повреждения терпящего поражение самца. В результате этих манипуляций формируется группа мышей с агрессивным типом поведения – последовательным



**Рис. 1.** Экспериментальная клетка в периоды 5-минутной активации (слева) и постоянного проживания (справа).

опытом побед в агонистических взаимодействиях (агрессоры, победители), которые в ежедневных тестах демонстрируют выраженную агрессивность, нападая на незнакомого партнера, преследуя и атакуя его. При этом также формируется группа самцов с субмиссивным (подчиненным, подавленным, угнетенным) типом поведения, демонстрирующих позы подчинения или бегство (жертвы, побежденные) в результате приобретения последовательного опыта социальных поражений.

Животные исследовались в различные временные периоды формирования альтернативных типов социального поведения: после 2–3, 10 и 20 тестов-дней (агрессоры Т3, Т10 и Т20 и жертвы Т3, Т10 и Т20 соответственно). Контролем для обеих групп мышей служат самцы мышей без последовательного опыта агонистических взаимодействий, проживающие перед экспериментом по одному в течение 5 дней в индивидуальных клетках для снятия эффектов группового содержания животных и для удобства тестирования поведения в различных тестах. В работах были использованы преимущественно мыши линий СВА/Лас и С57BL/6J.

Подробное описание с объяснением этапов методики приводилось в статьях [59, 72] и в монографии “Практика исследования агонистического поведения. Методы, методология, интерпретации” [19].

Психэмоциональное состояние животных в процессе формирования альтернативных типов социального поведения и эффекты препаратов у самцов мышей исследовали с применением общепризнанных для этих целей поведенческих тестов: 1) тест “перегородка”, оценивающий реакцию самцов друг на друга (коммуникативность), а также уровень агрессивной мотивации и тревожности в зависимости от целей экспериментов [18]; тест приподнятого крестообразного лабиринта [75] для оценки выраженности состояния тревожности; тест Порсолта [78] для оценки уровня депрессивности; тест открытого поля, оценивающий двигательную активность и сопровождающие ее другие формы поведения, и др. Кроме того, изучали особенности социального поведения в парных агонистических взаимодействиях, в частности, исследовали выраженность агрессивности по параметрам – латентное время атаки, количество и длительность атак, враждебное поведение (суммарное время атак, куда входило также преследование, агрессивный груминг и разбрасывание чужой подстилки), угрозы, патологические формы поведения, такие как стереотипии, смещенная активность, гиперактивность и т. д. У самцов мышей, терпящих поражения при агрессивных нападениях партнера, фиксировали избегания, позы активной защиты или полного подчинения, уровень депрессивности, замирание, поведенческий дефицит, сниженную коммуникативность и т. д. Подробное

описание различных форм поведения представлено в публикации [19] и др.

ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНАЯ  
СИМПТОМАТИКА  
И ПСИХОСОМАТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ,  
ВОЗНИКАЮЩИЕ  
У САМЦОВ МЫШЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ  
ПОВТОРНОГО СОЦИАЛЬНОГО ОПЫТА  
В АГОНИСТИЧЕСКИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

Повторный опыт агонистических взаимодействий формирует альтернативные типы социального поведения у мышей, победителей и побежденных. Опыт агрессии, сопровождающийся победами, создает позитивный эмоциональный фон, который стимулирует самцов к повторным нападениям. Социальные поражения в межсамцовых конфронтациях вызывают негативные эмоции, постоянную тревогу и страх быть атакованным агрессивным партнером на фоне ожидания неблагоприятного развития событий. Как следствие, победители (агрессоры, агрессивные мыши) и побежденные (жертвы, субмиссивные мыши) демонстрируют в поведенческих тестах различия в эмоциональном поведении, двигательной и исследовательской активности, общительности. У контрастных по поведению социальных групп мышей найдены большие различия в нейрохимической активности мозга [17, 22].

Было также показано, что длительный социальный конфликт ведет к развитию патологических состояний, причем, надо отметить, что у разных линий мышей патологическая симптоматика может отличаться. Так, у самцов мышей линии C57BL/6J длительный опыт социальных поражений, помимо симптомов депрессивности [62, 66], сопровождается развитием иммунопатологии [29]. У депрессивных мышей был выявлен высокий уровень тревожности [1, 8, 61], что позволило предположить и подтвердить развитие у мышей этой линии симптомов смешанного тревожно-депрессивного расстройства. У мышей линии CBA/Lac с генетической предрасположенностью к каталептическим реакциям в условиях стресса наблюдаются спонтанные кататонические и/или каталептические проявления в разных тестах (застывание, замирание, ригидность) [24, 31, 32, 65]. Сравнение изменений у мышей двух линий, находившихся под влиянием хронического социального стресса, позволяло выявлять особенности наследственной предрасположенности к развитию различных психоневрологических расстройств [63]. Сегодня уже можно говорить о многих психосоматических симптомах, которые могут быть сформированы на основе субмиссивного или агрессивного типов поведения у самцов мышей разных линий в условиях

модели хронического социального конфликта [обзор, 64].

Наблюдение за поведением животных в норме (интактное состояние) и после длительного участия в агонистических взаимодействиях позволило сформулировать восемь критериев [57], соответствием которым, по мнению автора, свидетельствовало о появлении признаков патологического состояния у мышей.

В качестве критериев развития патологии были предложены:

- изменение (увеличение или снижение) **длительности** проявления и/или **выраженности** какой-либо поведенческой формы; чрезмерность проявления;
- появление **новых** форм поведения, которые животные не проявляли ранее;
- **неадекватный** поведенческий ответ или физиологическая реакция на определенные социальные стимулы или стимулы окружающей среды; неконтролируемость поведения в некоторых ситуациях;
- **неадаптивность** поведения в предлагаемых условиях или экспериментальной ситуации;
- **генерализация** доминирующих мотиваций;
- длительное **сохранение** (персистентность) изменений в поведении и психоэмоциональном состоянии после прекращения действия психопатогенных факторов среды;
- выраженные и множественные **нейрохимические изменения**, а также **изменение экспрессии генов** в различных структурах головного мозга;
- **соответствие** клинической картины того или иного психоэмоционального или неврологического расстройства, формирующегося у мышей, клинике болезни у людей. Это сходство этиологии, симптоматики, чувствительности к соответствующим препаратам, применяемым для лечения этой болезни, а также нейрохимических изменений, возникающих у животных в сравнительном аспекте с симптоматикой у людей в процессе ее развития. Эти критерии, первоначально предложенные для моделей депрессии [77], могут быть распространены и на другие экспериментальные патологии.

К настоящему времени в соответствии с принятыми критериями развития патологического состояния подтверждены и изучены такие психоэмоциональные нарушения у мышей, как смешанное тревожно-депрессивное расстройство [61, 62, 66], генерализованная тревога, патология агрессивного поведения по типу психоза с признаками аддиктивного состояния [56, 57, 60], психогенный иммунодефицит [29].

### *Смешанное тревожно-депрессивное расстройство*

Повышенная тревожность, фобии и депрессия являются широко распространенными психоэмоциональными заболеваниями у людей. Проведенные эксперименты на животных показано, что ежедневный негативный опыт в социальных агонистических взаимодействиях на фоне хронического социального стресса в условиях постоянной угрозы нападения со стороны агрессивного партнера сопровождаются драматическими изменениями социального и индивидуального поведения, а также соматического состояния побежденных особей (жертв агрессии), которые сходны по этиологии, симптоматике, лечению и нейрохимическим изменениям в мозге с патологией депрессии у человека [1, 8, 62, 66]. Подробное описание проведенных исследований представлено в обзорах [12, 61]. У животных с депрессивноподобным состоянием были найдены выраженный поведенческий дефицит, индифферентность по отношению к окружающему, депрессивность, генерализованная тревога, ангедония, потеря массы тела, сниженная реакция на стресс, половая дисфункция, нарушение когнитивных функций [1, 8, 61, 66]. При этом антидепрессанты и анксиолитики оказывали терапевтический эффект у таких животных [1, 23, 64]. В качестве патогенного фактора, ведущего к развитию психоэмоционального расстройства, рассматривается хронический эмоциональный, неизбежный социальный стресс, негативные эмоции, хроническая тревога.

В процессе формирования смешанного тревожно-депрессивного расстройства у мышей были обнаружены динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности в отделах мозга, свидетельствующие о гипофункции этих систем у депрессивных животных [1, 8, 61]. Патологическая симптоматика длительно сохранялась после прекращения действия психопатогенного фактора [2], что подтверждает развитие патологии поведения, свидетельствуя о персистенности развившихся патологических состояний.

### *Патология агрессивного поведения*

Модель позволяет формировать агрессивный тип поведения у самцов мышей под влиянием повторного опыта агрессии и побед в агонистических взаимодействиях с терпящим поражение партнером. Ежедневный позитивный опыт агрессии изменяет психоэмоциональное состояние победителей, а также их социальное и индивидуальное поведение в разных ситуациях и ведет к формированию патологии агрессивного поведения [20, 26, 56, 57, 60, 67, 72] по типу психоза, которое сопровождается повышенными нервозностью, раздражительностью и импульсивностью, выраженной тревогой, появлением большого числа стереотипий

и гиперкинетических реакций. У агрессивных самцов развиваются гиперактивность, гиперчувствительность в ответ на воздействие стимулами разной природы, изменяется реакция на боль. Они теряют способность к социальному распознаванию: не отличают самца от самки, нападают на самцов, демонстрирующих полное подчинение, или ювенильных мышей. Некоторые самцы демонстрируют патологическую агрессию, неудержимую злобность и враждебность по отношению к партнеру в любой ситуации. Во всех случаях социальных взаимодействий преобладает агрессивная мотивация. Многочисленными экспериментами подтверждено в соответствии с общепризнанными критериями развитие аддиктивного состояния [обзоры 57, 60]. Показаны активация, в первую очередь, дофаминергических и опиоидергических систем в различных отделах мозга и снижение серотонергической активности.

### *Психогенный иммунодефицит*

У мышей с депрессивноподобным состоянием отмечалось угнетение клеточного и гуморального иммунитета [29, 36, 47, 74]. Это означает, что хронический социальный стресс, формирующий состояние хронической тревоги, ведет к развитию психогенного иммунодефицита [обзор 29], который сопровождается также изменением экспрессии генов канцерогенеза и апоптоза в гипоталамусе депрессивных мышей [51]. Показано также, что процесс метастазирования у этих животных идет активнее, чем у контрольных особей [13, 74].

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО КОНФЛИКТА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ

1. Сравнение особей с альтернативными типами социального поведения друг с другом и с контролем позволяет дифференцировать **специфические** изменения, характерные для формирования только агрессивного или только субмиссивного типов поведения, от **общих** для обеих форм изменений параметров, обусловленных влиянием социального стресса.

2. Методика позволяет формировать альтернативные формы социального поведения у самцов мышей **одной и той же линии**, которые исходно не различаются существенно по физиологическим, нейрохимическим и поведенческим характеристикам. При сравнении же альтернативных групп мышей разных линий появляется возможность вычленять особенности влияния хронического опыта агонистических взаимодействий на особей с различными наследственно обусловленными свойствами нервной системы.

3. Одним из основных методических преимуществ модели является возможность последовательного изучения **динамической перестройки** нейрохимической активности мозга в зависимости от длительности конфронтационных взаимодействий, а также от выраженности патологического состояния, развивающегося в этих условиях у животных. Другими словами, можно исследовать механизмы развития болезни во времени — от нормы до глубокой патологии.

4. Модель позволяет исследовать **механизмы инверсии** (смены) типа поведения с агрессивного на субмиссивный и, наоборот, при ссаживании двух особей со сходным типом социального поведения. Такие исследования по изучению поведенческих и нейрохимических [22], а также иммунологических [48] показателей проводились и показали их изменение вслед за изменением социального статуса.

5. Новым направлением, предоставляемым моделью хронического социального конфликта, является возможность исследования молекулярных изменений в мозге в рамках фундаментального подхода “От поведения к гену” [30] в дополнение к общепринятому ранее подходу “От гена к поведению”.

6. Показано, что под влиянием хронических социальных взаимодействий у животных изменяется экспрессия многих генов специфично для каждого отдела мозга. Эти данные хорошо вписываются в новое направление “Функциональная нейрогеномика патологических состояний”. Впервые изменение экспрессии генов в отделах мозга было показано методом ПЦР в конце 90-х гг. [37, 38, 49, 50] и подтвердилось позднее [42, 46, 53, 82]. Впоследствии данные также были подтверждены транскриптомным анализом [4, 28, 71, 79, 83]. Показано,

что нейрогеномные изменения могут длительно сохраняться [40, 73, 80], отличаясь по составу генов в разных отделах мозга у животных с разными психэмоциональными расстройствами.

## ОСНОВНЫЕ СХЕМЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

### *Исследование динамических изменений психэмоционального состояния и нейрохимической активности в мозге в зависимости от стадии болезни*

Наблюдение за поведением животных, участвующих в агонистических взаимодействиях, позволило выделить три критических периода, по прошествии которых различия между контролем и экспериментальными животными проявлялись особенно выражено. Это 2–3 дня агонистических взаимодействий — стадия острого социального стресса, в течение которых формируются альтернативные типы социального поведения; 10 дней агонистических взаимодействий — стадия развивающейся патологии и 20–21 день — стадия развития патологии поведения [2].

Дизайн эксперимента строится таким образом, чтобы исследование контроля и животных, например, после 10 и 21 дней социальных взаимодействий, происходило в один и тот же период (рис. 2) с небольшим сдвигом на исследование животных в поведенческих тестах. Аналогичная схема применяется для исследования эффектов повторного опыта социальных поражений мышей. Исследование поведения в различных тестах проводили, как правило, в одни и те же критические периоды, при условии — один тест в день.



**Рис. 2.** Экспериментальный дизайн для изучения динамических изменений нейробиологических показателей после повторного опыта агрессии. Сравняются контрольные самцы без последовательного опыта агонистических взаимодействий (контроль), самцы после 10 и 20 дней ежедневных конфронтаций, в процессе которых самцы демонстрировали агрессию, сопровождавшуюся победами. Сходный дизайн используется для изучения эффектов повторного опыта социальных поражений.

Отслеживание изменений состояния мышей в процессе развития патологии поведения дает возможность выявить динамику развития психоэмоционального расстройства во времени от нормы до глубокой патологии. При этом данные, полученные в разные годы, хорошо воспроизводятся. Наиболее подробно изучено изменение серотонергической активности в различных структурах головного мозга у мышей в процессе формирования смешанного тревожно-депрессивного расстройства. Первоначально исследовали уровень серотонина и его метаболитов, активность ферментов синтеза и разрушения, реакцию на агонисты и антагонисты серотониновых рецепторов, проводили радиолигандный анализ рецепторов в различных отделах мозга [обзор, 1]. В последние годы с применением транскриптного анализа изучали изменения экспрессии генов, кодирующих белки, вовлеченные в метаболизм серотонина, в отделах мозга мышей с контрастными типами социального поведения [41, 73, 80].

В первых исследованиях было показано, что формирование депрессивноподобного состояния (10-й тест) на фоне выраженной тревоги сопровождается отделоспецифичной активацией серотонергической активности в мозге [обзор, 1]. После 20 тестов и более, когда уже сформировано депрессивноподобное состояние, наблюдается снижение серотонергической активности в некоторых отделах мозга. Можно было предположить, что в ходе лечения, по-видимому, на 10-й тест, необходимо снижать серотонергическую активность, что позволит предотвратить воздействие выраженной тревожности, а на 20-й тест для получения лечебного эффекта – повысить, что и делают антидепрессанты – блокаторы ингибиторов обратного захвата серотонина в синаптической щели, используемые при лечении депрессии у пациентов. В результате этих исследований было выявлено постепенное вовлечение регуляторных звеньев, изменяющихся в ответ на изменения активности серотонергической системы – от ее активации до гипофункции. Исследование динамических изменений нейрохимической активности в мозге в процессе формирования патологии поведения с очевидностью дает возможность предлагать схему лечения в зависимости от выраженности симптоматики.

*Исследование способов предотвращения рецидивов заболеваний, возникающих после периодов прекращения агонистических взаимодействий*

Сохранение длительных изменений в поведении, психоэмоциональном состоянии и нейрохимической активности, а также экспрессии генов в разных отделах мозга, вовлеченных в патологический процесс после прекращения агонистических взаимодействий, открыло новые перспективы для выявления механизмов развития рецидивов

заболеваний, что не предлагали другие модели патологических состояний у животных. Сравняются контроль, самцы после 20 дней агонистических взаимодействий с развитием патологического состояния, и самцы после 14-дневного периода, в течение которых агонистические взаимодействия прекращались.

Нужно отметить, что период отсутствия агонистических взаимодействий в течение двух недель интерпретируется по-разному у животных с альтернативным опытом социального поведения из-за разного психоэмоционального сопровождения. У самцов мышей с повторным опытом агрессии, который сопровождается позитивными эмоциями – о чем свидетельствует стремление животных повторить этот тип поведения – этот период назван депривацией, т. е. рассматривается как лишение возможности демонстрировать агрессивное поведение [33, 58, 70]. В то же время у животных с повторным опытом социальных поражений и переживаний негативных эмоций этот период прекращения агонистических взаимодействий рассматривается как период относительного покоя.

В этих экспериментах на 20-й день агонистических взаимодействий проводится видеозапись поведения самцов в обеих группах для того, чтобы быть уверенным, что данные группы агрессоров (или жертв) идентичны по выраженности основных форм поведения. Это позволит считать, что все изменения, которые сохранятся или возникнут после периода прекращения конфронтаций, являются его следствием.

Было показано, что сформированные психоэмоциональные состояния, как правило, сохранялись после периода прекращения агонистических взаимодействий у самцов обеих групп с альтернативными типами социального поведения. Самцы с депрессивноподобным состоянием демонстрировали выраженную тревожность в различных тестах, даже после проживания в течение этого периода с самками во вполне комфортных условиях – при отсутствии угрозы, т. е. присутствия агрессивного самца в соседнем отсеке [2]. У агрессивных самцов также отмечали выраженный уровень тревожности после 20 дней конфронтаций [26, 67]. Кроме того, неоднократно было показано, что у них после периода депривации существенно усиливается агрессивность [33, 57, 58, 60, 70], что являлось одним из основных признаков развития состояний по типу аддикции [60]. Эти эксперименты подтвердили развитие патологических состояний у мышей под влиянием повторного опыта агонистических взаимодействий в соответствии с предложенными критериями. Кроме того, они позволили выявить основные нейротрансмиттерные системы, ответственные за развитие патологии.

В качестве иллюстрации специфики отставленных эффектов влияния агонистических взаимодействий можно привести изменение экспрессии генов, кодирующих белки, вовлеченные в метаболизм серотонина в ядрах шва среднего мозга, в которых расположено скопление тел серотонергических нейронов [46, 82]. Исследовали изменение экспрессии генов *Tph2*, кодирующих триптофангидроксилазу, *Sert* (*Slc6a4*) – серотониновый транспортер, *Maoa* – моноаминоксидазу, и *Htr1a* – серотониновый рецептор 1a.

Одновременно сравнивались: контроль, самцы после 20 дней агонистических взаимодействий, в которых они демонстрировали агрессию, сопровождающуюся победами, и аналогичная группа агрессивных самцов после 14 дней депривации, в течение которых они были лишены возможности демонстрировать агрессию (перегородку не убирала) (рис.3, А). В аналогичном режиме исследовали последствия хронического социального стресса после периода относительного покоя у самцов мышей с депрессивноподобным состоянием (см. рис. 3, В).

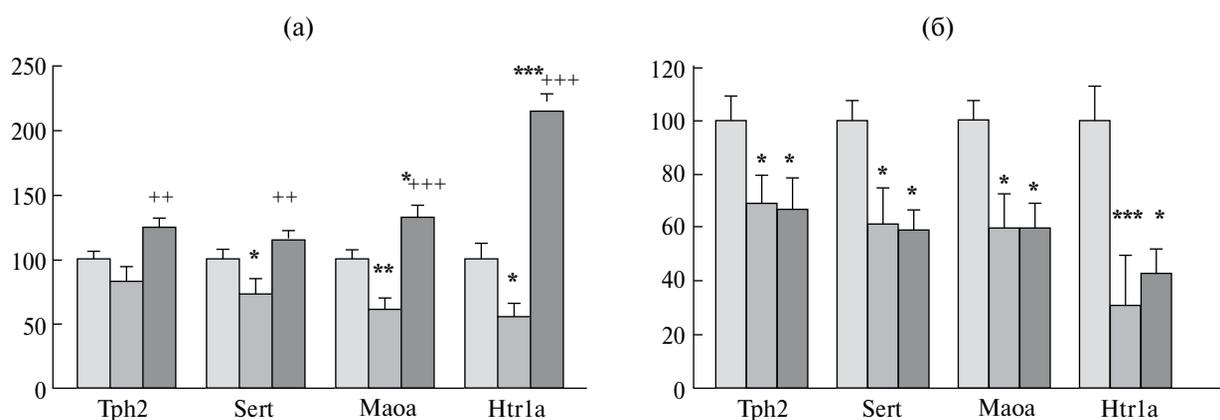
Результаты показали сходные изменения – снижение экспрессии генов у агрессивных и депрессивных животных после 20 дней агонистических взаимодействий [46, 82], что было подтверждено впоследствии аналогичными данными с использованием транскриптомного анализа [71]. Однако после депривации у агрессивных животных экспрессия генов – *Tph2*, *Sert* (*Slc6a4*) и *Maoa* повышается, возвращаясь к контрольному уровню. В то же время у самцов мышей с депрессивноподобным состоянием экспрессия этих же генов не изменяется, оставаясь на уровне значений до периода относительного покоя. Это позволило предполагать, что именно изменения в серотонергической

активности определяют формирование депрессивноподобного состояния.

У самцов мышей с повторным опытом агрессии аналогичная динамика изменений экспрессии генов до и после депривации была выявлена в вентральной тегментальной области, в которой находится скопление дофаминергических нейронов: под влиянием повторного опыта агрессии в этой области увеличивается экспрессия генов *Th* и *Dat1* (*Slc6a3*), кодирующих белки, вовлеченные в работу дофаминергической системы [42] – это тирозингидроксилаза и дофаминовый транспортер (соответственно). Повышенная экспрессия этих генов сохранялась и после периода депривации – двухнедельного отсутствия агонистических взаимодействий.

Эксперименты также показали, что существуют не только опосредованные связи между изменением экспрессии генов в мозге и поведением у животных, но также прямая коррелятивная взаимосвязь между параметрами поведения и экспрессией генов непосредственно в мозге. Так, было показано, что экспрессия гена *Th* в вентральной тегментальной области у самцов с повторным опытом агрессии в течение 20 дней положительно коррелирует с числом и временем атак [42].

Эти и в последующем сходные данные по изменению экспрессии генов до и после депривации в прилежащих ядрах позволили выдвинуть концептуальную парадигму для анализа нейрогеномных данных [73] и выявления генов, ответственных в первую очередь за развитие болезни. У агрессивных животных именно гены *Th*, *Drd1*, *Drd2*, *Adra2c*, *Ppp1r1b*, и *Maoa*, кодирующие белки, которые участвуют в работе катехоламинергических



**Рис. 3.** Уровень экспрессии серотонергических генов *Tph2*, *Sert* (*Slc6a4*), *Maoa*, и *Htr1a* в ядрах шва среднего мозга у контроля (светлые столбики), агрессивных или депрессивных мышей после 20 дней агонистических взаимодействий (серые столбики) и после прекращения агонистических взаимодействий (темные столбики): а – изменения экспрессии генов у самцов с опытом агрессии [82]; б – изменения экспрессии генов у депрессивных самцов [46]. Данные представлены в процентах от среднего уровня у контрольных мышей. \* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P < 0.001$  vs контроль; ++ –  $P < 0.01$ ; +++ –  $P < 0.001$ .

систем, можно рассматривать ответственными в первую очередь за развитие патологии. Аналогичную динамику продемонстрировали также серотонергические гены *Maoa*, *Htr1a*, *Htr1f*, и *Htr3a*; опиоидергические гены *Oprk1*, *Pdyn*, и *Penk*; и глутаматергические гены *Grid1*, *Grik4*, *Grik5*, *Grin3a*, *Grm2*, *Grm5*, *Grm7*, а также *Gad1*, измененная экспрессия которых под влиянием повторного опыта агрессии не вернулась к контрольному состоянию после двух недель депривации [73]. Для интерпретации молекулярных изменений в мозге при анализе нейрогеномных данных был предложен критерий, соответствие которому может свидетельствовать о развитии патологии поведения: болезнь начинается тогда, когда в измененное состояние вовлекаются специфические гены, характерные для этого заболевания, экспрессия которых не возвращается к норме через две недели после прекращения воздействия психопатогенного фактора.

#### *Поиски периферических маркеров*

Возможность формировать патологические состояния у самцов мышей, сходные с таковыми у пациентов, открывает перспективы поиска периферических маркеров соответствующих заболеваний. Ранее, на стадии выраженной депрессии (но не на стадии формирующейся патологии после 10 тестов) было выявлено снижение уровня серотонина в крови у мышей [обзор, 1], позволившее предположить, что этот показатель может быть использован периферическим маркером глубины развития патологии, особенно если иметь в виду, что депрессивноподобное состояние, как было показано, сопровождается сниженной серотонергической активностью в мозге. Это же подтвердили исследования на депрессивных пациентах, у которых предполагали функциональный дефицит серотонина в мозге [85, 86], о чем свидетельствовал сниженный уровень основного метаболита серотонина 5-гидроксииндолуксусной кислоты в спинномозговой жидкости [39, 45].

В других исследованиях, проведенных методом масс-спектрометрического анализа [81], было показано, что под влиянием хронического социального стресса повышается уровень амилоидных белков и аполипопротеинов в плазме крови депрессивных мышей, но не мышей с опытом агрессии. Эти изменения сопровождались также повышенным уровнем некоторых белков-серинов, которые вызывают нарушения, связанные с липидным обменом, воспалением и иммунитетом. В целом можно говорить о сходстве изменений экспрессии этих белков у депрессивных мышей с таковыми у пациентов с болезнью Альцгеймера [76].

Нужно также отметить, что в процессе формирования смешанного тревожно-депрессивного состояния у мышей наблюдались динамические

изменения многих других показателей крови, которые могли бы служить периферическими маркерами глубины развития депрессивной патологии. Так, после 10 тестов у жертв повышается содержание глюкозы в крови [3], что может свидетельствовать об активации процессов гликогенолиза и о поступлении образовавшейся глюкозы в органы, функционирование которых жизненно необходимо при стрессе. Повышается содержание холестерина, а также активность фермента лактатдегидрогеназы в лимфоцитах крови, которая остается существенно повышенной и на следующей стадии [10, 11]. Происходит изменение лейкоцитарной формулы крови и др. Подробно литературные сведения по поиску периферических маркеров у депрессивных мышей приводятся в обзоре [1].

#### ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА В НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

В результате исследований стало очевидным, что длительная активация нейротрансмиттерной системы, вовлекаемой в процесс формирования патологии поведения, на каком-то из ее этапов может отразиться на состоянии рецепторов и привести к их десенситизации. В то же время длительное угнетение системы или выключение ее из процесса регуляции может привести к сенситизации определенных рецепторов. Как следствие, различное состояние рецепторов может обусловить разную поведенческую или физиологическую реакцию на фармакологическое воздействие. Можно предположить, что рецепторы становятся более чувствительными к агонистам, что способно обеспечить повышенную реакцию на препарат, или же может происходить снижение чувствительности определенных рецепторов, что в свою очередь тоже может изменять ответ на препараты.

Дизайн экспериментов, в которых применялось однократное введение агонистов или антагонистов каких-либо рецепторов, позволяет оценить возможное изменение нейрохимической активности мозга в процессе формирования психоэмоциональных расстройств. Для этого интактным мышам (контроль), а также животным, находящимся на разных стадиях развития “болезни”, однократно вводят одни и те же предварительно подобранные дозы агонистов или антагонистов (в зависимости от целей эксперимента) определенного типа рецепторов или препарата, использующегося в клинике. Сравнение эффекта препарата проводят при сопоставлении поведения животных в тестах с введением растворителя. Разный эффект фармакологического воздействия по выраженности или направленности у интактных, агрессивных или субмиссивных животных свидетельствует

об изменении активности нейротрансмиттерной системы, вовлекаемой в формирование альтернативных типов социального поведения и, как следствие, в патогенный процесс.

С помощью этого метода было показано, что разные стадии развития психоэмоционального расстройства у мышей часто характеризуются неодинаковой реакцией на многие препараты, что подтверждает динамические изменения состояния нейрохимической активности мозга [обзор, 1]. В качестве иллюстрации можно описать эффекты диазепама (0.5 мг/кг), который оказывал анксиогенный эффект, оцениваемый в крестообразном приподнятом лабиринте, используемом для оценки тревожности [75], у самцов с небольшим опытом агрессии (три дня), и анксиолитический эффект у самцов с длительным опытом агрессии (20 дней), но при этом диазепам однонаправленно уменьшал общее время враждебного поведения (нападения, угрозы, преследования и т. п.) у самцов обеих групп [25].

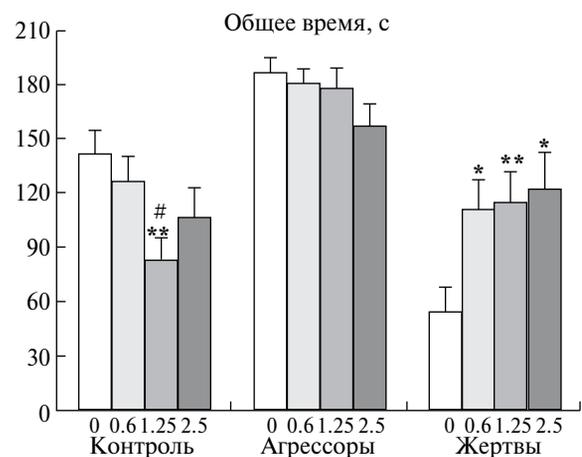
Суммируя экспериментальные данные по изучению препаратов разных классов, используемых для купирования агрессивности у людей в клинике, можно сделать общий вывод: при однократном введении эффекты препаратов, таких как: диазепам [25], галоперидол [69], налтрексон [6], буспирон [5], вальпроат [34] – различались у животных с кратковременным и длительным опытом агрессии, поскольку, как предполагалось, их действие накладывались на разное состояние нейрохимической активности в мозге. Практически все препараты оказали антиагрессивный эффект у самцов с небольшим опытом агрессии. У самцов с длительным опытом агрессии галоперидол, налтрексон и буспирон не оказали эффекта, что позволяет предполагать необходимость применения более высоких доз препаратов для купирования агрессии, поскольку у самцов развивалась меньшая чувствительность к воздействию. И лишь диазепам при остром введении снизил агрессивность самцов с длительным повторным опытом агрессии, возможно, за счет своего анксиолитического действия [25]. Вальпроат вызвал токсический эффект у этих животных: они надолго застывали в неподвижной позе [34].

В других исследованиях оценивался уровень коммуникативности у обеих групп животных с альтернативным социальным опытом, по поведенческой реакции на партнера в соседнем отсеке в тесте “перегородка”. Ранее было показано, что у жертв агрессии (субмиссивных самцов) эти показатели коррелируют с показателями в крестообразном приподнятом лабиринте, свидетельствуя о развитии или отсутствии тревожности [обзор 18]. В то же время у агрессивных животных эти же показатели коррелировали с уровнем агрессивности, проявляемой в тесте агонистических взаимодействий, когда

перегородку, разделяющую животных, убирали. В эксперименте вводили селективный агонист каппа-опиоидных рецепторов U-50,488H в различных дозах (рис. 4) [68]. Оказалось, что у контрольных животных препарат снижал поведенческую реакцию на партнера в соседнем отсеке, что свидетельствовало, скорее всего, об анксиогенном эффекте препарата.

У самцов мышей с повторным опытом агрессии было обнаружено отсутствие действия препарата на поведение в этом тесте, что трактовалось как развитие десенситизации каппа-опиоидных рецепторов в ответ на предполагаемую активацию опиоидергических систем мозга под влиянием повторного опыта агрессии и побед [68]. И препарат оказывал анксиолитический эффект у самцов с негативным социальным опытом, которые ранее демонстрировали сниженную коммуникативность.

Интересными оказались полученные факты о том, что десенситизация определенных типов рецепторов, выявленная фармакологическим методом, подтвердилась затем в биохимических исследованиях. В вентральной тегментальной области мозга у агрессивных самцов было обнаружено снижение экспрессии гена, кодирующего каппа-опиоидные рецепторы по отношению к таковому у контрольных животных [53].



**Рис. 4.** Различные эффекты острого введения селективного агониста каппа-опиоидных рецепторов U-50,488H (в дозах 0.6, 1.25 и 2.5 мг/кг) у мышей с альтернативными типами социального поведения на коммуникативное поведение контрольных, агрессивных и депрессивных мышей после 10 дней агонистических взаимодействий в тесте “перегородка” [68]: *белые столбцы* – животные, получавшие плацебо; *штрихованные столбцы* – получавшие препарат. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$  – по сравнению с животными, получавшими плацебо (растворитель); # $P < 0.05$  – по сравнению с предыдущей дозой препарата.

Однако нужно отметить, что интерпретация результатов может измениться в том случае, если введение тестируемого агониста каких-либо рецепторов не вызывало изменений в поведении у контрольных животных, но при этом оказывало действие у животных с опытом агонистических взаимодействий. В этом случае можно говорить о сенситизации этих рецепторов [19].

Различное действие на поведение агрессивных и субмиссивных животных оказали также препараты: флезиноксан, агонист серотониновых рецепторов первого типа 5-HT<sub>1a</sub> [27]; агонист дофаминовых рецепторов второго типа (D<sub>2</sub>) (+)3PPP [12]; и DAMGO, агонист мю-опиоидных рецепторов [68].

Подводя итог, можно сказать, что применение однократного введения препаратов животным с различными психопатологиями позволяет первично оценить нейрохимические изменения, происходящие в мозге в процессе воздействия психопатогенного фактора, в нашем случае – повторного опыта агонистических взаимодействий. Как уже отмечалось выше, изучение активности нейротрансмиттерных систем в каждой временной точке в процессе развития патологического состояния может быть полезным при разработке методов фармакологической коррекции в зависимости от стадии болезни.

### СКРИНИНГ ПСИХОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ В УСЛОВИЯХ, ПРИБЛИЖЕННЫХ К КЛИНИЧЕСКИМ

На основании проведенных исследований с использованием модели хронического социального

конфликта был предложен экспериментальный подход, который может позволить, с большой вероятностью, минимизировать фазу доклинических и, возможно, клинических испытаний, по крайней мере, для психотропных препаратов, корректирующих некоторые психоэмоциональные расстройства и сопровождающие их психосоматические заболевания. Использование животных с патологией поведения, имитирующей то или иное заболевание у людей, дает возможность изучать эффекты хронического введения психотропных препаратов с предполагаемыми терапевтическими свойствами в условиях, приближенных к клиническим [64] при сравнении с поведением аналогичной группы самцов, которым вводили растворитель. Эффективность препарата можно оценивать путем сравнения состояния животных, прошедших лечение, с показателями поведения у интактных животных.

Надо отметить, что при изучении эффектов препаратов обязательным условием было использование доз, которые оказывали минимальное влияние на двигательную активность для того, чтобы вычленить их воздействие непосредственно на основные симптомы, такие как повышенная агрессивность, агрессивная мотивация, тревожность, депрессивность и др. Для этого исходно проверялась чувствительность к острому введению препаратов, применяемых в клинике. Проведенные исследования на животных с использованием известных психотропных препаратов, применяющихся в медицине для купирования депрессивности и тревожности, показали хорошее соответствие их эффектам у больных людей [64].

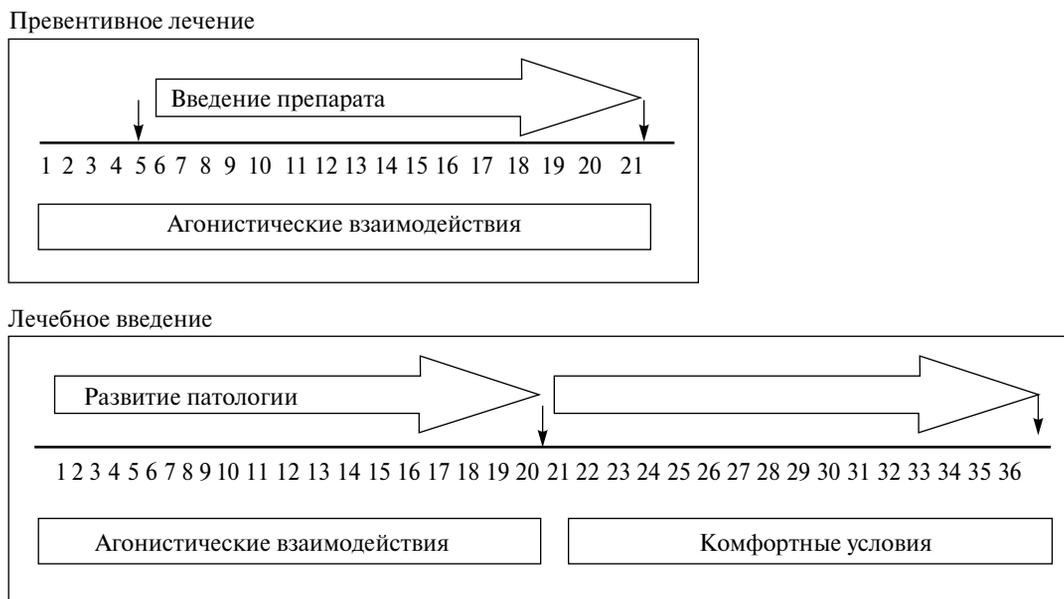


Рис. 5. Дизайн экспериментов для выяснения терапевтического и превентивного лечения при хроническом введении животным со сформированным патологическим состоянием.

Хроническое введение препаратов на фоне патологических состояний может быть использовано для постановки диагноза патологии у животных, с одной стороны, и для экспериментального скрининга новых препаратов, с другой. Использовались две схемы фармакологического воздействия — терапевтическое (лечебное) и превентивное (профилактическое) введение. При обоих способах введения исследуются три группы мышей: контроль (интактные животные); хроническое введение растворителя или препарата животным с патологией поведения.

*Лечебное введение.* Лечебный (терапевтический) способ воздействия (рис. 5) предполагает хроническое введение препаратов самцам мышей со сформированным психоэмоциональным расстройством. Препараты вводились в течение 2-недельного периода относительного покоя при отсутствии агонистических взаимодействий. Параллельно такой же группе “больных” животных в аналогичных условиях вводят плацебо (растворитель). Аналогично изучаются эффекты препаратов с целью купирования постдепривационных последствий у животных с повторным опытом агрессии и для выявления свойств препаратов для лечения тревожно/депрессивного расстройства.

*Превентивное введение.* Этот способ позволяет выявить протекторные свойства препаратов. Для этого животных после 5–7 дней социальных конфликтов, в течение которых формируются альтернативные типы социального поведения, на фоне продолжающихся агонистических взаимодействий ежедневно (как правило, в утренние часы) вводят препараты с предполагаемыми или известными терапевтическими свойствами (рис. 5). Агонистические взаимодействия проводят во второй половине дня. В аналогичном режиме такой же группе животных вводят растворитель (“плацебо”). После определенного периода фармакологического воздействия, который должен быть не менее 2-х недель для препаратов с предполагаемыми психотропными свойствами, исследуют всех животных в поведенческих тестах, сравнивая их поведение с контролем.

Предполагается, что, если поведение животных на фоне агонистических взаимодействий под влиянием хронического введения препарата отличается от поведения самцов с аналогичным опытом, которым вводили плацебо, и приближается к показателям параметров у контроля, значит, препарат оказал протекторное действие и предотвратил или уменьшил воздействие психопатогенного фактора, например, хронического стресса. Сравнивая группу контрольных животных с исходно “больными” особями, прошедшими курс лечения препаратом, выясняют эффективность действия, т. е. в какой мере препарат улучшил измененные поведенческие

или физиологические показатели, приблизив их к уровню у интактных животных.

Было показано, что препараты могут оказывать различный эффект при разных способах лечения. Так, выявлен анксиогенный и анксиолитический эффекты хлорида лития при превентивном и лечебном способах введения самцам мышей с повторным опытом агрессии [35]. Диазепам при превентивном введении животным с негативным социальным опытом оказывал про—депрессивный и слабый анксиолитический эффект [9]. При терапевтическом воздействии диазепам оказывал анксиолитический, но не антидепрессивный эффект [14].

Данные по фармакологическим исследованиям при различных способах введения подробно представлены в обзорной статье “An experimental approach for the study of psychotropic drug effects under simulated clinical conditions” 2008 [64].

#### ПЕРСПЕКТИВЫ: ФАРМАКОГЕНОМНАЯ ТЕРАПИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

В последние годы при поддержке Российского научного фонда (2014–2023) показано, что развитие и экспериментальной депрессии, и состояний по типу психоза у мышей сопровождаются специфическими изменениями экспрессии многих генов в разных отделах мозга. При этом кодируемые ими продукты работают как на уровне изменения метаболической активности и/или клеточных процессов, так и белков, участвующих в функционировании нейротрансмиттерных систем (серотонергической, дофаминергических, глутаматергической, ГАМКергической и др.), активность которых изменяется у животных под влиянием повторного опыта агонистических взаимодействий [40, 41, 71, 73, 79, 80]. Таким образом, становится возможным проводить скрининг **препаратов нового поколения**, работающих на геномном уровне — направление, которое можно было бы назвать “Фармакогеномная терапия патологических состояний”.

Идея использовать литий для изучения его возможного влияния на экспрессию генов вытекала из ранних экспериментальных поведенческих исследований по изучению влияния нового энтеросорбента на основе лития (ноолит) на поведение самцов, находящихся в условиях хронического социального стресса [44]. Было показано, что при хроническом введении, как в превентивном, так и лечебном режимах, препарат оказал явное анксиолитическое и антидепрессивное действие. Это свидетельствовало о том, что ноолит может быть эффективным препаратом для лечения смешанной тревожно-депрессивной патологии и профилактики расстройств настроения.

В первых нейрогеномных исследованиях было показано, что под влиянием хронического введения хлорида лития в превентивном режиме [84] наблюдалось увеличение экспрессии серотонергических генов (*Trh2*, *Slc6a4*, *Htr1a*, *Htr5b*) в ядрах шва среднего мозга у депрессивных животных со сниженной экспрессией этих генов. Эти исследования позволяют сделать вывод, в первом приближении, что фармакогеномная терапия патологических состояний может быть более эффективной по сравнению с традиционной терапией, которая, как правило, работает на уровне отдельных звеньев измененной нейрохимической активности, не затрагивающей геномный уровень при развитии заболевания и потому часто сопровождается рецидивами. Однако эти предположения требуют тщательной проверки.

Подводя итог перспективам фармакологических исследований с использованием модели хронического социального конфликта, можно сказать, что модель позволяет исследовать следующее:

1. **Лечебные эффекты** препаратов при хроническом введении животным с выраженной патологией.

2. **Протекторные эффекты** препаратов при превентивном введении животным на фоне агонистических взаимодействий.

3. Лечебные и протекторные эффекты препаратов на **разных стадиях развития болезни** в зависимости от ее тяжести — от нормы до глубокой патологии (эффекты препаратов могут быть разными. Возможно, понадобится применять различные препараты в зависимости от стадии болезни).

4. **Персонализированные способы лечения** — у агрессивных и депрессивных животных происходят разные изменения в головном мозге. Очевидно (и показано), что один и тот же препарат в одной и той же дозе, например анксиолитик, может оказывать анксиогенный и анксиолитический эффект или никакого эффекта в зависимости от болезни, ее стадии или симптома, который предполагается купировать.

5. **Эффективность лечения** при сравнении животных с психоэмоциональным расстройством с введением растворителя или препарата можно получить статистически значимый позитивный эффект. Однако при сравнении с показателями у интактных животных может стать очевидным низкая эффективность препарата.

6. Способы предотвращения **рецидивов болезни**. Известно, что многие психоэмоциональные расстройства после успешного лечения возобновляются. При известных механизмах возможна разработка фармакологических методов предотвращения рецидивов.

7. Модель позволяет формировать и исследовать **большой спектр патологий** при использовании разных линий мышей с разной наследственной предрасположенностью, которые демонстрировали различающуюся патологическую симптоматику.

Был получен патент “Способ выявления свойств препаратов с предполагаемым психотропным действием” [21].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования, проводимые в период 1997–2024 гг., позволили раскрыть возможности применения модели хронического социального конфликта, в частности для моделирования различных патологических состояний у мышей разных линий, и исследовать нейрофизиологические изменения на разных стадиях развития болезни, моделирование которых у животных позволяет также проводить фармакологические исследования по выявлению терапевтических и протекторных свойств препаратов при хроническом введении и изучать их эффективность в условиях, приближенных к клиническим. Этот подход может быть полезным при скрининге новых антидепрессантов, анксиолитиков, антипсихотических препаратов и использован для лучшего понимания механизмов их действия. Предлагаемый этологический подход открывает также перспективы для изучения молекулярных и клеточных механизмов развития различных болезней и для разработки методов фармакогеномной терапии психоэмоциональных расстройств.

## ОГРАНИЧЕНИЯ

Основным ограничением применения модели является необходимость подготовки исследователей, способных работать с этой моделью, которая приобретает с опытом и/или приходит со знанием особенностей поведения мышей разных линий в тех или иных экспериментальных состояниях и ситуациях. Эти сведения можно получить, работая со специалистами или приобретая их в публикациях [19], с целью обучения и понимания всех этапов и деталей модели, каждая из которых отрабатывалась экспериментально и является важной, несмотря на кажущуюся простоту исполнения [16, 55].

Большое значение имеет выбор мышей для этой модели и условия содержания этих животных в виварии до того, как они будут использованы в эксперименте. В зарубежной литературе распространено применение укороченной и упрощенной модификации российской версии модели, предложенной американскими исследователями [52], с целью формирования депрессивноподобного состояния у мышей (*chronic social defeat model of depression*) с аббревиатурой CSDS. Эта модификация позволяет исследовать некоторые процессы

влияния хронического социального стресса, однако ее возможности существенно ограничены.

**Вклад автора.** Модель сенсорного контакта, в последующем переименованная в модель хронического социального конфликта, была разработана автором статьи [16, 55]. С 1997 г. автор статьи являлась руководителем Сектора нейрогенетики социального поведения Института цитологии и генетики СО РАН и зав. Лабораторией моделирования нейропатологий, поддержанной проектами Российского научного фонда.

**Конфликт интересов.** Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор статьи и руководитель развиваемого направления благодарит молодых исследователей за интерес к работе и участие в экспериментах: студентов, аспирантов, соискателей ученых степеней, принимавших участие на разных этапах исследований при работе над дипломами и диссертациями. Искреннюю благодарность выражаю сотрудникам Лаборатории моделирования нейропатологий за участие в работе по грантам Российского научного фонда при изучении нейрогенетических изменений в мозге. Автор признателен доктору биологических наук Н.А. Дюжиковой и сотрудникам Лаборатории генетики высшей нервной деятельности ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН за возможность проведения совместных исследований.

### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа с применением модели хронического социального конфликта проводилась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (1994–2019гг), Российского научного фонда (2014–2023гг), программами Российской академии наук, предоставленных автору, а также поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4)

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, используемые при работе с мышами, проводились в соответствии с международными правилами проведения экспериментов с животными (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes). Применяемые методики для изучения поведения у мышей были одобрены Научной комиссией № 9 Института цитологии и генетики СО РАН (24.03.10, № 613).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Августинович Д.Ф., Алексеенко О.В., Бакштановская И.В. и др.* Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: Экспериментальное исследование // *Успехи физиол. наук.* 2004. Т. 35. № 4. С. 19–40.
2. *Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н.* Модель тревожной депрессии: персистентность поведенческой патологии // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2005. Т. 90. № 10. С. 1235–1245.
3. *Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Сорокина И.В., Толстикова Т.Г.* Изменения биохимических показателей крови мышей в процессе развития экспериментальной депрессии // *Бюл. эксп. биол. мед.* 2003. Т. 135. № 4. С. 40–409.
4. *Бабенко В.Н., Смагин Д.А., Коваленко И.Л., Галямина А.Г., Кудрявцева Н.Н.* Дифференциально экспрессирующиеся гены семейства *Slc6a* как маркеры измененной функции нейротрансмиттерных систем мозга при патологических состояниях у мышей // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова.* 2019. Т. 69. № 1. С. 98–112. DOI: 10.1134/S0044467719010039
5. *Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н.* Влияние бупропиона на агрессивное и тревожное поведение самцов мышей с различным опытом агрессии // *Экспер. клинич. фарм.* 2003. Т. 66. № 4. С. 12–16.
6. *Бондарь Н.П., Смагин Д.А., Кудрявцева Н.Н.* Эффекты однократного и хронического введения налтрексона на агонистическое поведение самцов мышей с повторным опытом агрессии // *Психофармакол. биол. нарколог.* 2011. Т. 11. № 1–2. С. 2688–2700.
7. *Вишнинецкая Г.Б., Августинович Д.Ф., Кудрявцева Н.Н.* Развитие двигательных нарушений у самцов мышей линии DBA/2J под влиянием повторного опыта агрессии // *Журн. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова.* 2013. Т. 62. № 2. С. 235–245. DOI: 10.7868/S004446771302010X
8. *Галямина А.Г., Коваленко И.Л., Смагин Д.А., Кудрявцева Н.Н.* Взаимосвязь депрессии и тревожности в развитии смешанного тревожно-депрессивного расстройства // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова* // 2016.

- Т. 66. № 2. С. 181–201.  
DOI: 10.7868/S0044467716020039
9. *Галымина А.Г., Смагин Д.А., Коваленко И.Л., Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н.* Влияние диазепамы на смешанное тревожно/депрессивное расстройство у самцов мышей // *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*. 2013. Т. 99. № 11. С. 1240–1249.
  10. *Грязева Н.И., Шурлыгина А.В., Вербицкая Л.В. и др.* // Изменение некоторых показателей иммунного статуса мышей под влиянием хронического социального конфликта // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 1999. Т. 85. № 8. С. 1035–1042.
  11. *Грязева Н.И., Шурлыгина А.В., Вербицкая Л.В. и др.* Изменение активности лактат- и сукцинатдегидрогеназы лимфоцитов крови у самцов с агрессивным и субмиссивным типами поведения // *Бюл. эксп. биол. мед.* 2000. Т. 129. № 1. С. 53–55.
  12. *Ильюченко Р.Ю., Дубровина Н.И., Попова Е.В.* Взаимодействие стереотипного поведения у мышей и эффект активации пресинаптических дофаминергических рецепторов при угасании и амнезии // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*. 2001. Т. 51. № 4. С. 467–472.
  13. *Каледин В.И., Тендитник М.В., Николин В.П., Попова Н.А., Кудрявцева Н.Н.* Влияние психоэмоционального состояния на рост и метастазирование опухоли Льюис у мышей // *Докл. акад. наук*. 2006. Т. 406. С. 57–59.
  14. *Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н.* Развитие симптомов аутистического спектра под влиянием хронического социального стресса у тревожных самцов мышей: эффекты диазепамы // *Психофармакол. биол. наркол.* 2010. Т. 10. № 1–2. С. 2624–2635.
  15. *Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н.* Изменение социального поведения у самцов мышей линии СВА/Лас под влиянием агонистических взаимодействий // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*. 2015. Т. 65. № 4. С. 486–497.  
DOI:10.7868/S0044467715040061
  16. *Кудрявцева Н.Н.* Особенности формирования агонистического поведения у мышей с применением модели сенсорного контакта. // *Новосибирск: Изд-во Институт цитологии генетики СО РАН*, 1987. 39 с.
  17. *Кудрявцева Н.Н.* Агонистическое поведение: модель, эксперимент, перспективы // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2000. Т. 85. С. 67–85.
  18. *Кудрявцева Н.Н.* Применение теста “перегородка” в поведенческих и фармакологических экспериментах // *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2002. Т. 88. С. 90–105.
  19. *Кудрявцева Н.Н.* Практика исследования агонистического поведения: Методы, методология, интерпретации // *Новосибирск: Наука-центр*, 2012, 172 с. ISBN 978-5-9554-0026-6
  20. *Кудрявцева Н.Н.* Нейробиология агрессии: мыши и люди. *Новосибирск: Наука-центр*, 2013, 272 с. ISBN 978-5-9554-0028-4
  21. *Кудрявцева Н.Н., Августинovich Д.Ф., Бондарь Н.П., Тендитник М.В., Коваленко И.Л.* Патент “Способ выявления свойств препаратов с предполагаемым психотропным действием” // 06.12.2007 (№ 2006140591).
  22. *Кудрявцева Н.Н., Бахитановская И.В.* Нейрохимический контроль агрессии и подчинения // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*. 1991. Т. 41. № 5. С. 459–466.
  23. *Кудрявцева Н.Н., Бахитановская И.В., Мадорская И.А. и др.* Экспериментальная модель депрессии: нейрохимические изменения, эффекты имипрамина и циталопрама // *Журн. невропат. психиат. им. Корсакова С.С.* 1992. Т. 92. № 1. С. 106–109.
  24. *Кудрявцева Н.Н., Бахитановская И.В., Попова Н.К.* Кататония как элемент субмиссивного поведения у мышей при внутривидовых агонистических взаимодействиях // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова* 1989. Т. 39. № 1. С. 128–136.
  25. *Кудрявцева Н.Н., Бондарь Н.П.* Анксиолитический и анксиогенный эффекты диазепамы у самцов мышей с различным опытом агрессии // *Бюлл. экспер. биол. мед.* 2002. Т. 133. № 4. С. 429–433.
  26. *Кудрявцева Н.Н., Бондарь Н.П., Августинovich Д.Ф.* Влияние повторного опыта агрессии на агрессивную мотивацию и развитие тревожности у самцов мышей // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*. 2003. Т. 53. № 3. С. 361–71.
  27. *Кудрявцева Н.Н., Липина Т.В., Вишнинецкая Г.Б., Августинovich Д.Ф.* Участие С1А и С2 рецепторов в формировании различного уровня тревожности у самцов мышей под влиянием опыта социальных побед и поражений // *Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова*. 1996. Т. 2. С. 370–377.

28. Кудрявцева Н.Н., Смагин Д.А., Коваленко И.Л., Галямина А.Г., Бабенко В.Н. Дифференциально экспрессирующиеся гены в мозге мышей линии C57BL/6J, ассоциируемые с агонистическими взаимодействиями. Базы данных. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2016. 81 стр. ISBN 978-5-7692-1519-3
29. Кудрявцева Н.Н., Шурлыгина А.В., Галямина А.Г. и др. Иммунопатология смешанного тревожно-депрессивного расстройства: экспериментальный подход к коррекции иммунодефицитных состояний // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2017. Т. 67 № 6. С. 671–692. DOI: 10.7868/S0044467717060016].
30. Кудрявцева Н.Н., Филипенко М.Л., Бахитановская и др. (2004) Изменения экспрессии моноаминергических генов под влиянием повторного опыта агонистических взаимодействий: от поведения к гену // Генетика. 2004. Т. 40. № 6. С. 732–748.
31. Куликов А.В., Кудрявцева Н.Н., Козлачкова Е.Ю., Попова Н.К. Связь между активностью триптофангидроксилазы в головном мозге и проявлением каталепсии у мышей // Бюлл. exper. биол. мед. 1989. V. 108. № 9. P. 269–271.
32. Липина Т.В., Михневич Н.В., Кудрявцева Н.Н. Развитие кататонических реакций у самцов мышей линии СВА/Lac: эффекты повторного опыта агрессии и подчинения // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2003. Т. 53. № 1. С. 88–93.
33. Смагин Д.А., Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Повторный опыт агрессии и последствия депривации у самцов мышей // Психофармакол. биол. наркол. 2010. Т. 10. № 1–2. С. 2636–2648.
34. Смагин Д.А., Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Влияние вальпроата натрия на агрессивное поведение самцов мышей с разным опытом агрессии // Журн. эксперим. фармакол. токсикол. 2010. Т. 73. № 1. С. 10–15.
35. Смагин Д.А., Кудрявцева Н.Н. Анксиогенный и анксиолитический эффекты хлорида лития при превентивном и лечебном способах введения самцам мышей с повторным опытом агрессии // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2014. Т. 64. № 6. С. 646–659.
36. Тендитник М.В., Шурлыгина А.В., Мельникова Е.В., Кудрявцева Н.Н., Труфакин В.А. Изменение субпопуляционного состава лимфоцитов иммунокомпетентных органов мышей под влиянием хронического социального стресса // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2004. Т. 90. № 12. С. 1522–1529.
37. Филипенко М.Л., Бейлина А.Г., Алексеенко О.В., Долгов В.В., Кудрявцева Н.Н. Увеличение экспрессии генов серотонинового транспортера и моноаминоксидазы А в мозге самцов мышей под влиянием повторного опыта социальных поражений // Биохимия. 2002. Т. 67. № 4. С. 451–455.
38. Филипенко М.Л., Бейлина А.Г., Алексеенко О.В., Кудрявцева Н.Н. Изменение экспрессии гена катехол-О-метилтрансферазы под влиянием агонистических взаимодействий // Докл. А.Н. 2001. Т. 377. С. 411–414.
39. Asberg M., Bertilsson L. Martensson B. et al. CSF monoamine metabolites in melancholia // Acta Psychiatr. Scand. 1984. V. 69. № 3. P. 201–219 DOI: 10.1111/j.1600-0447.1984.tb02488.x
40. Babenko V., Redina O., Smagin D. et al. Elucidation of the landscape of alternatively spliced genes and features in the dorsal striatum of aggressive/aggression-deprived mice in the model of chronic social conflicts // Genes 2023. V. 14. № 3. P. 599 <https://doi.org/10.3390/genes14030599>
41. Babenko V., Redina O., Smagin D. et al. Dorsal striatum transcriptome profile profound shift in repeated aggression mouse model converged to networks of 12 transcription factors after fighting deprivation // Genes. 2022. Т. 13. № 21. 24 p. <https://doi.org/10.3390/genes13010021>.
42. Bondar N.P., Boyarskikh U.A., Kovalenko I.L., Filipenko M.L., Kudryavtseva N.N. Molecular implications of repeated aggression: *Th*, *Dat1*, *Sncα* and *Bdnf* gene expression in the VTA of victorious male mice // PLoS ONE. 2009. Т. 4. № 1. e4190. DOI: 10.1371/journal.pone.0004190
43. Bondar N.P., Kovalenko I.L., Avgustinovich D.F., Smagin D.A., Kudryavtseva N.N. Anhedonia in the shadow of chronic social defeat stress, or When the experimental context matters // Open Behav. Sci. J. 2009. № 3. P. 17–27. DOI: 10.2174/1874230000903010017]
44. Borodin Ju.I., Kudryavtseva N.N., Tenditnik M.V. et al. Behavioral effects of novel enter sorbent Noolit on mice with mixed depression/anxiety-like state // Pharmacol. Biochem. Behav. 2002. V. 72. P. 131–141. DOI: 10.1016/s0091-3057(01)00735-3
45. Bowers M.B., Lumbar C.S.F. 5-hydroxyindoleacetic acid and homovanillic acid in affective

- syndromes // *J. Nerv. Ment. Dis.* 1974. T. 158. № 5. P. 325–330.
46. *Boyarskikh U.A., Bondar N.P., Filipenko M.L., Kudryavtseva N.N.* Downregulation of serotonergic genes expression in the raphe nuclei of midbrain under chronic social defeat stress in male mice // *Mol. Neurobiol.* 2013. T. 48. № 1. P. 13–21. DOI: 10.1007/s12035-013-8413-y
47. *Devoino L.V., Alperina E.L., Kudryavtseva N.N., Popova N.K.* Immune responses in male mice with aggressive and submissive behavior patterns: strain differences // *Brain Behav. Immun.* 1993. V. 7/ P. 91–96. DOI: 10.1006/brbi.1993.1009
48. *Devoino L., Alperina E., Pavina T.* Immunological consequences of the reversal of social status in C57BL/6J mice // *Brain Behav. Immun.* 2003. V. 17. P. 28–34. DOI: 10.1016/s0889-1591(02)00037-5
49. *Filipenko M.L., Alekseyenko O.V., Beilina A.G., Kamynina T.P., Kudryavtseva N.N.* Increase of tyrosine hydroxylase and dopamine transporter mRNA levels in ventral tegmental area of male mice under influence of repeated aggression experience // *Mol. Brain Res.* DOI: 10.1016/s0169-328x(01)00270-4
50. *Filipenko M.L., Beilina A.G., Alekseyenko O.V., Dolgov V.V., Kudryavtseva N.N.* Repeated experience of social defeats increases serotonin transporter and monoamine oxidase A mRNA levels in raphe nuclei of male mice // *Neurosci. Lett.* 2002. V. 321. № 1–2. P. 25–28. DOI: 10.1016/s0304-3940(01)02495-8.
51. *Galyamina A.G., Smagin D.A., Kovalenko I.L. et al.* The dysfunction of carcinogenesis- and apoptosis-associated genes that develops in the hypothalamus under chronic social defeat stress in male mice // *Biochemistry (Moscow).* 2022. V. 87. № 9. P. 1050–1064. DOI: 10.1134/S0006297922090152
52. *Golden S.A., Covington H.E., Berton O., Russo S.J.* A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice // *Nature Protoc.* 2011. V. 6. № 8. P. 1183–1191. DOI: 10.1038/nprot.2011.361
53. *Goloshchapov A.V., Filipenko M.L., Bondar N.P., Kudryavtseva N.N., Van Ree J.M.* Decrease of  $\kappa$ -opioid receptor mRNA level in ventral tegmental area of male mice after repeated experience of aggression // *Mol. Brain Res.* 2005. V. 135. P. 290–292. DOI: 10.1016/j.molbrainres.2004.11.009
54. *Kovalenko I.L., Smagin D.A., Galyamina A.G., Kudryavtseva N.N.* Hyperactivity and abnormal exploratory activity developing in the CD-1 male mice under chronic experience of aggression and social defeats in daily agonistic interactions // *J. Behav. Brain Sci.* 2015. V. 5. № 1. P. 478–490. DOI: 10.4236/jbbs.2015.511046
55. *Kudryavtseva N.N.* The sensory contact model for the study of aggressive and submissive behaviors in male mice // *Aggress. Behav.* 1991. V. 17. № 5. P. 285–291. [http://dx.doi.org/10.1002/1098-2337\(1991\)17:5<285::AID-AB2480170505>3.0.CO;2-P](http://dx.doi.org/10.1002/1098-2337(1991)17:5<285::AID-AB2480170505>3.0.CO;2-P)
56. *Kudryavtseva N.N.* Neurophysiological consequences of repeated experience of aggression in daily agonistic confrontations (model, experiments, perspectives) (review). Novosibirsk: Institute of Cytology and Genetics SD RAS, 1997, 42 p
57. *Kudryavtseva N.N.* The psychopathology of repeated aggression: a neurobiological aspect // *In “Perspectives on the Psychology of Aggression”*. Ed. JP Morgan. NY: Nova Science Publishers, Inc. 2006. Ch. 2. p. 35–64.
58. *Kudryavtseva N.N.* Straub tail, the deprivation effect and addiction to aggression. In “Motivation of Health Behavior.” Ed. P.W. O’Neal, NOVA Science Publishers, Inc. 2007: Ch 7: 97–110.
59. *Kudryavtseva N.N.* Sensory contact model: Protocol, control, applications // *Horizons in Neuroscience Research.* NOVA Science Publishers Inc., New York, 2011. Editors: Andres Costa and Eugenio Villalba, 2011. P. 81–100.
60. *Kudryavtseva N.N.* Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies // *Aggress. Viol. Behav.* 2020. V. 52. № 1–3. P. 101403. DOI: 10.1016/j.avb.2020.101403
61. *Kudryavtseva N.N.* Development of mixed anxiety/depression-like state as a consequences of chronic anxiety: Review of experimental data // (2021) Ch. in Book “Neuroscience of Social Stress”, Eds KA. Miczek, R. Sinha, In: *Current Topics in Behavioral Neurosciences.* Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2021\\_248](https://doi.org/10.1007/7854_2021_248).
62. *Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F.* Behavioral and physiological markers of experimental depression induced by social conflicts (DISC) // *Aggress. Behav.* 1998. № 24. P. 271–286. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2337\(1998\)24:4<271::AID-AB3>3.0.CO;2-M](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1098-2337(1998)24:4<271::AID-AB3>3.0.CO;2-M)

63. Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F., Bakshtanovskaya I.V. et al. Experimental studies of hereditary predisposition to the development of depression // *Animal Models of Biological Psychiatry*. Ed A. Kalueff, NY: Nova Science Publishers. 2006. Ch. 5. P. 75–95.
64. Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F., Bondar N.P., Tenditnik M.V., Kovalenko I.L. An experimental approach for the study of psychotropic drug effects under simulated clinical conditions // *Curr. Drug Metab.* 2008. V. 9. № 4. P. 352–360.  
DOI: 10.2174/138920008784220592
65. Kudryavtseva N.N., Bakshtanovskaya I.V. Experience of defeat increases the susceptibility to cataleptic-like state in mice // *Behav. Process.* 1989. № 20. P. 139–149.  
DOI: 10.1016/0376-6357(89)90019-3
66. Kudryavtseva N.N., Bakshtanovskaya I.V., Koryakina L.A. Social model of depression in mice of C57BL/6J strain // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1991. V. 38. № 2. P. 315–320.  
doi: 10.1016/0091-3057(91)90284-9.
67. Kudryavtseva N.N., Bondar N.P., Avgustinovich D.F. Association between repeated experience of aggression and anxiety in male mice // *Behav. Brain Res.* 2002. № 1. P. 83–93.  
DOI: 10.1016/s0166-4328(01)00443-0.
68. Kudryavtseva N.N., Gerrits M.A., Avgustinovich D.F., Tenditnik M.V., Van Ree J.M. Modulation of anxiety-related behaviors by mu- and kappa-opioid receptor agonists depends on the social status of mice // *Peptides.* 2004. V. 25. № 8. P. 1355–1363.  
DOI: 10.1016/j.peptides.2004.05.005.
69. Kudryavtseva N.N., Lipina T.V., Koryakina L.A. Effects of haloperidol on communicative and aggressive behavior in male mice with different experiences of aggression // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1999. V. 63. № 2. P. 229–236.  
DOI: 10.1016/s0091-3057(98)00227-5.
70. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Bondar N.P. Modeling fighting deprivation effect in mouse repeated aggression paradigm // *Progr. NeuroPsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2011. V. 35. № 6. P. 1472–1478.  
DOI: 10.1016/j.pnpbp.2010.10.013.
71. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Kovalenko I.L. et al. Serotonergic genes in the development of anxiety/depression-like state and pathology of aggressive behavior in male mice: RNA-seq data // *Mol. Bio.l (Mosk)* 2017. V. № 51. 2. P. 288–300.  
DOI: 10.7868/S0026898417020136.
72. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Kovalenko I.L., Vishnivetskaya G.B. Repeated positive fighting experience in male inbred mice // *Nature Protoc.* 2014. V. 9. № 11. P 2705–2717.  
DOI:10.1038/nprot.2014.156
73. Kudryavtseva N.N., Smagin D.A., Redina O.E. et al. Neurotransmitter genes in the nucleus accumbens that are involved in the development of behavioral pathology after positive fighting experiences and their deprivation. A conceptual paradigm for neurogenomic data analysis // *bioRxiv* 10.1101/2023.12.30.573683 2023.  
<https://biorxiv.org/cgi/content/short/2023.12.30.573683v1>
74. Kudryavtseva N.N., Tenditnik M.V., Nikolin V.P., Popova N.A., Kaledin V.I. The influence of psychoemotional status on metastasis of Lewis lung carcinoma and hepatocarcinoma-29 in mice of C57BL/6J and CBA/Lac strains // *Exper. Oncol.* 2007. V. 29. № 1. P. 35–38.
75. Lister R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse // *Psychopharmacology (Berl)*. 1987. V. 92. № 2. P. 180–185.  
DOI: 10.1007/BF00177912\_
76. Ma C., Hong F., Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's disease: Pathogeny, etiology, and related therapeutic directions // *Molecules.* 2022. V. 27. № 4. P. 1210.  
DOI: 10.3390/molecules27041210.
77. McKinney W.T. Jr., Bunney W.E. Jr. Animal model of depression. Review of evidence: Implications for research // *Arch. Gen. Psychiatry.* 1969. № 2. P. 240–248.  
DOI: 10.1001/archpsyc.1969.01740200112015
78. Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // *Nature.* 1977. V. 266. № 5604. P. 730–732.  
DOI: 10.1038/266730a0
79. Redina O., Babenko V., Smagin D., Kovalenko I. et al. Gene expression changes in the ventral tegmental area of male mice with alternative social behavior experience in chronic agonistic interactions // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 18. P. 6599.  
doi: 10.3390/ijms21186599.
80. Redina O.E., Babenko V.N., Smagin D.A. et al. Effects of positive fighting experience and its subsequent deprivation on the expression profile of mouse hippocampal genes associated with neurogenesis // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 3040. P. 1–19.  
DOI: 10.3390/ijms24033040

81. *Smagin D.A., Bezryadnov D.V., Zavalova M.G. et al.* Blood plasma markers in depressed mice under chronic social defeat stress // *Biomedicines* 2024. V.12. № 1485. P. 1–15.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines12071485>
82. *Smagin D.A., Boyarskikh U.A., Bondar N.P., Filipenko M.L., Kudryavtseva N.N.* Reduction of serotonergic gene expression in the midbrain raphe nuclei under positive fighting experience // *Adv. Biosci. Biotech. Special Issue on Gene Expression*. 2013. V. 4. № 10B. P. 36–44.  
 DOI: 10.4236/abb.2013.410A3005.
83. *Smagin D.A., Galyamina A.G., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N.* Altered expression of genes associated with major neurotransmitter systems in the reward-related brain regions of mice with positive fighting experience // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 21. 13644:1-22.  
 DOI: 10.3390/ijms232113644
84. *Smagin D.A., Kovalenko I.L., Galyamina A.G., Belozertseva I.V., Tamkovich N.V., Baranov K.O., Kudryavtseva N.N.* Chronic lithium treatment affects anxious behaviors and expression of serotonergic genes in midbrain raphe nuclei of defeated male mice // *Biomedicines*. 2021. V. 9. № 1293. 16 p.  
 DOI: 10.3390/biomedicines9101293
85. *Van Praag H.M., Korf J.* Serotonin metabolism in depression: clinical application of the probenecid test // *Int. Pharmacopsychiatry*. 1974. V. 9. № 1. P. 35–51.  
 DOI: 10.1159/000468114
86. *Van Praag H.M., Korf J., Puite J.* 5-Hydroxyindoleacetic acid levels in the cerebrospinal fluid of depressive patients treated with probenecid // *Nature*. 1970. V. 225. № 239. P. 1259–1260.  
 DOI: 10.1038/2251259b0

## Prospects for Applying the Chronic Social Conflict Model in Medical and Biological Research

N. N. Kudryavtseva

*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia*  
*E-mail:n.n.kudryavtseva@gmail.com*

**Abstract** – Long-term studies (1987–2023) have shown that the model of chronic social conflict with the original name «sensory contact model» can be used to model various pathological conditions that develop in mice under the influence of chronic social stress, which makes it possible to study neurophysiological and neuromolecular mechanisms at different stages of disease development, in particular, increased anxiety, depression-like and psychosis-like states in mice of the C57BL/6 strain under repeated agonistic interactions. In pharmacological experiments in mice with different pathological symptoms, it becomes possible to study: the therapeutic and protective effects of drugs at different stages of disease development, the effectiveness of treatment, and methods for prevention of relapses of the disease. The model makes it possible to develop approaches to pharmacogenomic therapy, as well as search for peripheral markers of pathological conditions.

**Keywords:** Chronic social conflict model, modeling of psychoneuropathologies, screening of psychotropic drugs, mice.

УДК 57.052.2

## МНОЖЕСТВЕННЫЕ МЕХАНИЗМЫ АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ РЕЦЕПТОРА ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА

© 2024 г. А. О. Шпаков\*, К. В. Деркач\*\*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223 Россия

\*E-mail: alex\_shpakov@list.ru

\*\*E-mail: derkatch\_k@list.ru

Поступила в редакцию 08.07.2024 г.

После доработки 29.07.2024 г.

Принята к публикации 10.08.2024 г.

Регуляторные эффекты лютеинизирующего гормона (ЛГ) и хорионического гонадотропина (ХГ) реализуются посредством активации сопряженного с G-белками рецептора ЛГ/ХГ (ЛГ/ХГ-Р). Результатом этого является активация различных типов G-белков, что приводит к стимуляции ( $G_s$ ) или ингибированию ( $G_i$ ) цАМФ-зависимого пути и стимуляции кальциевого сигналинга ( $G_{q/11}$ ,  $G_j$ ), и рекрутирование  $\beta$ -аррестинов, которые предотвращают G-белковый сигналинг путем интернализации и даун-регуляции рецептора, но также могут активировать каскад митогенактивируемых протеинкиназ. Несмотря на определенное сходство эффектов ЛГ и ХГ, между ними имеются различия как в эффективности, так и в паттерне регуляции ЛГ/ХГ-Р. Это является следствием различий в аффинности ЛГ и ХГ к ортостерическому сайту рецептора, а также различий на уровне аллостерической регуляции рецептора, что обусловлено присутствием в  $\beta$ -субъединице ХГ С-концевого расширения, включающего сайты для O-гликозилирования, и вариабельностью N-гликозилирования  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц гонадотропинов. При этом различаются число N-гликанов, степень их разветвленности и заряд, что ведет к различной эффективности активации внутриклеточных каскадов, влияя на физиологический ответ репродуктивной системы на гонадотропины. Большое значение имеет образование гомоди(олиго)мерных комплексов ЛГ/ХГ-Р и его гетерокомплексов с рецептором фолликулостимулирующего гормона, где протомеры аллостерически влияют на эффективность активации ЛГ/ХГ-Р и предвзятость сигнальной трансдукции. С учетом большого числа аллостерических сайтов в ЛГ/ХГ-Р ведется разработка низкомолекулярных аллостерических его регуляторов, в том числе агонистов на основе тиено[2,3-d]-пиримидина и пептидов, производных цитоплазматических петель ЛГ/ХГ-Р. Эти регуляторы могут стать прототипами препаратов для коррекции функций репродуктивной системы. Анализу данных о сходстве и различиях в сигнальных и физиологических эффектах гонадотропинов с ЛГ-активностью, о роли в этом аллостерических механизмов и перспективах создания аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р посвящен настоящий обзор.

**Ключевые слова:** рецептор лютеинизирующего гормона, хорионический гонадотропин, аллостерический сайт, репродуктивная система, фолликулогенез, овуляция, стероидогенез.

DOI: 10.31857/S0301179824040031 EDN: ANEJYS

Сокращения: АКО – аминокислотный остаток; ЛГ – лютеинизирующий гормон; ЛГ/ХГ-Р – рецептор ЛГ/ХГ; ТМ – трансмембранный участок; ТМД – трансмембранный домен; ТП – тиено[2,3-d]пиримидиновое производное; ФСГ-Р – рецептор фолликулостимулирующего гормона; ХГ – хорионический гонадотропин; чХГ – ХГ человека; ARF6 – АДФ-рибозилирующий фактор 6; ВАРМ – предвзятый аллостерический модулятор; ECL – внеклеточная петля; GalNAc – сульфатированный N-ацетилгалактозамин; GPCR – G-белок-сопряженный рецептор; GRK – специфичная для GPCR рецепторная киназа; ICL – цитоплазматическая петля; MAPK – митоген-активируемые протеинкиназы; NAM – негативный аллостерический модулятор; РАМ – положительный аллостерический модулятор; PDE – фосфодиэстераза; TGF $\beta$  – рецептор трансформирующего фактора роста- $\beta$ ; TP03 – 5-амино-N-трет-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид; TP4/2 – 5-амино-N-трет-бутил-4-(3-(1-метил-1H-пирозол-4-карбоксамидо)фенил)-2-(метилсульфанил)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид.

## ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ РЕГУЛЯЦИИ РЕЦЕПТОРОВ ГОНАДОТРОПИНОВ, КАК ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СУПЕРСЕМЕЙСТВА GPCR

Лютеинизирующий гормон (ЛГ) и хорионический гонадотропин (ХГ), которые вырабатываются аденогипофизом (ЛГ, гипофизарный ХГ) или эмбрионом и плацентой на ранних этапах беременности (ХГ), являются важнейшими компонентами ЛГ-зависимой сигнальной системы, вовлеченной в регуляцию репродуктивных функций. Они активируют рецептор ЛГ/ХГ (ЛГ/ХГ-Р), который относится к семейству G-белок-сопряженных рецепторов (GPCR) класса А, связываясь с его ортостерическим сайтом, локализованным в значительном по размеру эктодомене. Ортостерический сайт GPCR является мишенью для основного эндогенного лиганда этого рецептора и обычно характеризуется высокой аффинностью к нему. ЛГ и ХГ связываются с ЛГ/ХГ-Р с высокой аффинностью, вызывая широкий спектр физиологических ответов. Однако эффективность и специфичность активации внутриклеточных каскадов, а соответственно и вызываемый ЛГ и ХГ конечный ответ, могут существенно различаться [4, 22, 68, 80, 104, 105], и это имеет вполне определенный биологический смысл, учитывая различную физиологическую роль ЛГ и ХГ в организме человека и других млекопитающих. Каждый из гонадотропинов имеет большое число изоформ, что определяется особенностями их гликозилирования и приводит к разнообразному паттерну специфической активности, влияя на предвзятость сигнальной трансдукции [19, 28, 49, 50, 73, 133]. Клеточный ответ на ЛГ и ХГ может регулироваться на уровне ЛГ/ХГ-Р путем посттрансляционных модификаций рецептора и вследствие образования гомо- и гетеро(олиго)мерных рецепторных комплексов [23, 27, 41, 47, 70, 71, 75]. Гликозилирование ЛГ и ХГ и образование ЛГ/ХГ-Р-содержащих комплексов являются важнейшими процессами аллостерической регуляции активности ЛГ/ХГ-Р и всей ЛГ/ХГ-опосредуемой сигнальной трансдукции. При этом нельзя исключить и аллостерического влияния на нее липидного состава мембран, ионного и аминокислотного состава во внутри- и межклеточной среде, доступности и функциональной активности адаптерных белков, образующих комплексы с ЛГ/ХГ-Р. Так мембранные липиды – холестерин и фосфолипиды, некоторые ионы ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  и другие), аминокислоты и их производные (Тур, Фру, Три, Леу, Пе, гомоцистеин, агматин и др.) и некоторые адаптерные белки могут функционировать как аллостерические регуляторы GPCR [110]. Однако прямые доказательства их участия в контроле активности ЛГ/ХГ-Р в настоящее время отсутствуют. Кроме того, в качестве эндогенных аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р

могут выступать аутоантитела к гонадотропинам с ЛГ-активностью и к ЛГ/ХГ-Р [72].

Существуют различные аллостерические механизмы регуляции ЛГ/ХГ-Р, что указывает на возможность тонкой настройки эффективности и селективности ЛГ/ХГ-индуцированной сигнальной трансдукции. Эта настройка зависит от физиологического статуса клетки, паттерна гликоформ ЛГ и ХГ, состава и соотношения ЛГ/ХГ-Р-содержащих комплексов, активности других сигнальных каскадов, модулирующих активность ЛГ/ХГ-Р, а также от выработки аутоантител к гонадотропинам и ЛГ/ХГ-Р. Такое многообразие аллостерических влияний предопределено существованием большого числа аллостерических сайтов в ЛГ/ХГ-Р, как это показано и для других GPCR класса А. Эти сайты могут быть локализованы во внеклеточных петлях и внешнем входе в трансмембранный тоннель, во внутренней полости этого тоннеля, на внешней поверхности трансмембранного домена (ТМД), граничащей с липидным бислоем мембраны, в цитоплазматических петлях и в области внутриклеточного входа в трансмембранный тоннель [110]. Аллостерические сайты, как правило, не столь специфичны к лигандам, как ортостерический сайт, и имеют более низкую аффинность к ним. Наряду с этим связывание с ними лигандов направлено в основном на модуляцию конститутивной или активированной ортостерическим агонистом активности GPCR, в то время как собственные эффекты таких лигандов выражены слабо и отчетливо выявляются только при использовании специально разработанных синтетических регуляторов с повышенным сродством к аллостерическим сайтам GPCR.

Соответственно, появляется возможность разработки сайт-специфичных аллостерических лигандов, которые будут наделены различным профилем фармакологической активности. В случае ЛГ/ХГ-Р они могут выступать в качестве модуляторов эффектов гонадотропина или иметь собственную агонистическую или антагонистическую активность. Как известно, аллостерические регуляторы могут снижать (негативный аллостерический модулятор, NAM) или повышать (положительный аллостерический модулятор, PAM) сродство и эффективность ортостерического агониста, модулировать другие аллостерические эффекты (“молчащий” аллостерический модулятор, SAM), проявлять собственную активность полного или инверсионного агониста и нейтрального антагониста в отсутствие ортостерического агониста, совмещать активность полного агониста и антагониста с активностью PAM (аго-PAM, PAM-антагонист) или NAM (аго-NAM) [110, 143, 145]. Поскольку аллостерические сайты взаимодействуют не только с ортостерическим сайтом, но и между собой, то профиль активности аллостерического лиганда

может быть сложным и не описываться в терминах предложенной классификации, что справедливо и для некоторых аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р. В дополнение к этому, с учетом множественности сигнальных каскадов, активируемых ортостерическими агонистами, некоторые аллостерические модуляторы могут избирательно усиливать или, напротив, ослаблять только один такой каскад, что приводит к предпочтительной активации определенного сигнального пути и обеспечивает предвзятый агонизм ортостерического агониста, используемого в комбинации с таким модулятором. Такие аллостерические лиганды относят к группе предвзятых или «смещенных» аллостерических модуляторов (ВАМ) [115, 145].

Настоящий обзор посвящен анализу и обсуждению роли в сигнальной трансдукции гликозилирования ЛГ и ХГ, комплексообразования ЛГ/ХГ-Р, в том числе его гетеродимеризации с рецептором фолликулолестимулирующего гормона (ФСГ-Р), вкладу этих процессов в контроль активности ЛГ/ХГ-Р и в развитие репродуктивных дисфункций. В обзоре рассмотрены современные достижения в разработке низкомолекулярных аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р, взаимодействующих с трансмембранными и цитоплазматическими сайтами рецептора. Перед рассмотрением аллостерических механизмов дана краткая характеристика ЛГ и ХГ, ЛГ/ХГ-Р и их сигнальных систем.

### СТРУКТУРА ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО ГОРМОНА И ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА

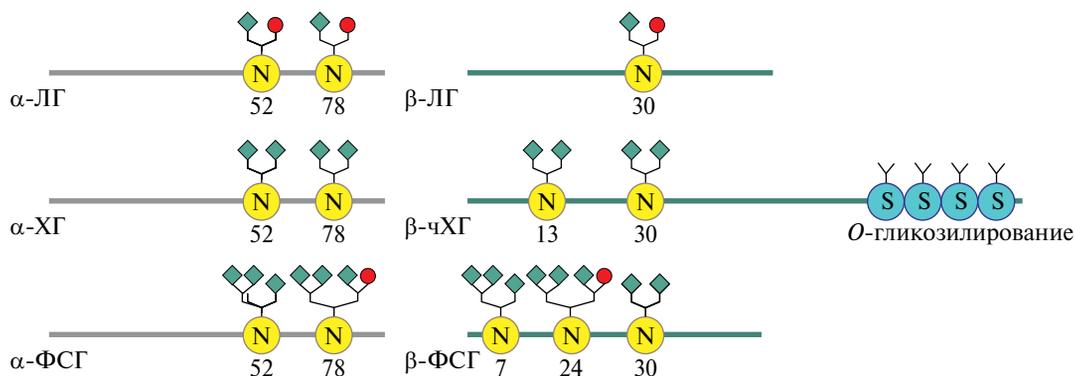
ЛГ и ХГ представляют собой  $\alpha\beta$ -гетеродимеры с молекулярной массой около 30 кДа. Секретция ЛГ осуществляется гонадотрофами аденогипофиза и контролируется гипоталамическим релизинг-фактором гонадолиберинном и опосредованно множеством полипептидных факторов, стероидными гормонами, цитокинами [44, 117]. Для ХГ человека (чХГ) известны гипофизарная форма, которая, подобно ЛГ, продуцируется гонадотрофами, плацентарная форма, секретлируемая эмбрионом и плацентой в первом триместре беременности, и гипергликозилированная форма, экспрессируемая на ранних стадиях развития эмбриона и существенно отличающаяся от ЛГ и других чХГ [31, 95].

$\alpha$ -Субъединица кодируется одним геном и является общей для всех гонадотропинов. Она представляет собой полипептид длиной 116–120 аминокислотных остатков (АКО) и характеризуется высокой степенью гомологии первичной структуры.  $\beta$ -Субъединицы сильно различаются по первичной структуре и определяют типовую принадлежность гонадотропина. Высококонсервативными в  $\beta$ -субъединицах являются остатки цистеина, определяющие их пространственную организацию

и ответственные за образование функционально активных  $\alpha\beta$ -гетерокомплексов. В 1990-е гг. была расшифрована 3D-структура гетеродимерной молекулы чХГ [74]. Важным структурообразующим компонентом  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц гонадотропинов являются внутримолекулярные дисульфидные связи, которые соединяют удаленные друг от друга сегменты  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц, благодаря чему те перекрещиваются между собой и формируют жесткую узловую структуру (cystine-knot). Цистиновые узлы локализованы в центральной части  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц и стабилизируют исходящие из нее петли – L1, L2 и L3 [101]. В гетеродимере  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицы расположены симметрично по отношению друг к другу, имеют выгнутую форму и большое отношение площади поверхности к объему молекулы. Полипептид, соответствующий С-концевой области  $\beta$ -субъединицы, выходит за пределы скрепленной цистиновыми узлами центральной части молекулы и функционирует как “ремень безопасности”, оборачиваясь вокруг антипараллельных спиралей, формирующих L2-петлю  $\alpha$ -субъединицы. Пространственная структура “ремня безопасности” стабилизируется внутримолекулярной S–S-связью, формируемой остатками цистеина, один из которых локализован в L1-петле  $\beta$ -субъединицы, другой – ближе к ее С-концу (в  $\beta$ -чХГ – Cys<sup>26</sup> и Cys<sup>110</sup>). Сегмент, формирующий центральную часть “ремня безопасности”  $\beta$ -субъединицы, определяет специфичность взаимодействия гонадотропина с ЛГ/ХГ-Р. В  $\beta$ -ЛГ и  $\beta$ -чХГ этот сегмент имеет суммарный положительный заряд, что предопределяет его взаимодействие с отрицательно заряженными сайтами ЛГ/ХГ-Р [101].

$\alpha$ - и  $\beta$ -Субъединицы подвергаются N-гликозилированию, поскольку содержат Asn-содержащие сайты, мишени N-гликозилтрансфераз, со структурой Lys-Asn-(Val/Ile) или (Glu/Tyr)-Asn-His [50]. В  $\alpha$ -субъединице локализованы два таких сайта (Asn<sup>52</sup>, Asn<sup>78</sup>), в  $\beta$ -субъединице – один ( $\beta$ -ЛГ, Asn<sup>30</sup>) или два ( $\beta$ -чХГ, Asn<sup>13</sup> и Asn<sup>30</sup>) сайта. В  $\beta$ -субъединице ФСГ, как и в  $\beta$ -чХГ, также имеются два сайта для N-гликозилирования (рис. 1). С-концевое расширение  $\beta$ -чХГ включает четыре сайта для O-гликозилирования, где мишенями O-гликозилтрансфераз являются остатки Ser<sup>121</sup>, Ser<sup>127</sup>, Ser<sup>132</sup> и Ser<sup>138</sup> [49, 50]. Степень гликозилирования, локализация и структура N-гликанов (разветвленность, заряд) в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах вносят значительный вклад в специфичность образования ими гетеродимерных комплексов и в их устойчивость, а также определяют связывающие характеристики и эффективность гонадотропинов, предвзятость их сигналинга, влияют на их фармакокинетику [15, 49, 50].

Представителем необычной группы гонадотропинов с ЛГ-активностью является ХГ лошади (лХГ), который сочетает свойства ЛГ и ФСГ



**Рис. 1.** *N*- и *O*-гликозилирование субъединиц ЛГ и ХГ человека, а также представленного для сравнения ФСГ. Для  $\alpha$ -ЛГ,  $\alpha$ -ФСГ и  $\alpha$ -ХГ представлены гликоформы  $\alpha$ -субъединиц, характерные для молекул ЛГ, ФСГ и плацентарного чХГ. Во всех субъединицах показаны сайты для *N*-гликозилирования, а в  $\beta$ -субъединицах чХГ – также локализованные в *C*-концевой части молекул сайты для *O*-гликозилирования. Приведены наиболее типичные структуры *N*-гликанов, характерные для представленных гонадотропинов. В  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах ЛГ и ХГ преобладают слабоветвленные (гибридные и двухантенные) *N*-гликаны, причем в секретируемом гипофизом ЛГ больше сульфатированного *N*-ацетилгалактозамина (GalNAc), а в секретируемом плодом и плацентой чХГ превалируют остатки сиаловой кислоты. В  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах ФСГ имеется значительное число более разветвленных (трех- и четырехантенных) *N*-гликанов, обогащенных сиаловой кислотой. Концевые остатки сиаловой кислоты обозначены *незакрашенными квадратами*, концевые остатки сульфатированного GalNAc обозначены *закрашенными кружочками*.

[76]. В отличие от чХГ  $\beta$ -субъединица лХГ имеет один сайт для *N*-гликозилирования (Asn<sup>13</sup>), но в *C*-концевой области содержит до 11–12 сайтов для *O*-гликозилирования, причем мишенями *O*-гликозилтрансфераз являются остатки как серина (Ser<sup>118</sup>, Ser<sup>123</sup>, Ser<sup>128</sup>, Ser<sup>130</sup>, Ser<sup>137</sup>, Ser<sup>140</sup>, Ser<sup>141</sup> и Ser<sup>149</sup>), так и треонина (Thr<sup>127</sup>, Thr<sup>129</sup>, Thr<sup>131</sup> и Thr<sup>133</sup>) [14]. Наряду с  $\beta$ -лХГ у лошади имеется  $\beta$ -субъединица ЛГ (лЛГ), которая также обладает двойной специфичностью, активируя ЛГ/ХГ-Р и ФСГР. Как и  $\beta$ -лХГ,  $\beta$ -лЛГ имеет до 11 сайтов для *O*-гликозилирования [20].

### СТРУКТУРА РЕЦЕПТОРА ЛГ/ХГ И МЕХАНИЗМЫ ЕГО СВЯЗЫВАНИЯ С ГОНАДОТРОПИНАМИ

ЛГ/ХГ-Р относится к классу А суперсемейства рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR), и включен в группу  $\delta$  родопсинового семейства, вместе с ФСГ-Р и рецептором тиреотропного гормона (ТТГ-Р). Гонадотропины связываются с высокоаффинным ортостерическим сайтом ЛГ/ХГ-Р, который сформирован значительным по размеру внеклеточным доменом, подобно тому, как это наблюдается в других рецепторах группы  $\delta$ .

Экдомен ЛГ/ХГ-Р включает до 360 АКО и содержит два структурных субдомена. Первый включает два повторяющихся участка, обогащенных лейцином (leucine-rich repeat, LRR), второй представляет собой шарнирную область, соединяющую LRR-субдомен с ТМД. Основными структурными

элементами ТМД являются семь трансмембранных спиралей (ТМ), образующих трансмембранный тоннель. На *N*- и *C*-концах шарнирной области располагаются еще два LRR-сегмента, LRR10 и LRR11, между которыми локализованы  $\alpha$ -спираль Pro<sup>272</sup>–Asn<sup>280</sup> и протяженная петлеобразная структура [41]. На *C*-конце шарнирной области, в месте перехода эктодомена в ТМД, локализован участок P10 (Phe<sup>350</sup>–Tyr<sup>359</sup>). Шарнирная область осуществляет тонкую регуляцию связывания гонадотропинов с эктодоменом и обеспечивает передачу генерируемого ими сигнала к ТМД [41].

Поверхность чХГ содержит кластеры, обогащенные положительно заряженными АКО, которые взаимодействуют с отрицательно заряженными АКО, формирующими лиганд-связывающую поверхность эктодомена ЛГ/ХГ-Р. Во взаимодействии с ЛГ/ХГ-Р вовлечены обе субъединицы чХГ. *C*-концевой сегмент 92–106  $\beta$ -чХГ взаимодействует с остатками Arg<sup>53</sup>, Ser<sup>55</sup>, Ala<sup>57</sup> и Tyr<sup>58</sup> повтора LRR1 и с остатком Glu<sup>206</sup> повтора LRR7, а остатки Val<sup>46</sup> и Gln<sup>48</sup>  $\beta$ -чХГ образуют контакты с остатками Gln<sup>246</sup> и Arg<sup>247</sup> повтора LRR10. Остатки Tyr<sup>88</sup>, Tyr<sup>89</sup> и Ser<sup>92</sup>  $\alpha$ -субъединицы взаимодействуют с Tyr<sup>127</sup>, Ile<sup>152</sup>, Lys<sup>180</sup> и Tyr<sup>182</sup>, локализованными в повторах LRR4–LRR6 ЛГ/ХГ-Р [41]. При связывании чХГ с рецептором конформационные изменения наблюдаются в четырех сегментах – в локализованном в  $\beta$ -чХГ участке, называемом “ремнем безопасности”, который отвечает за стабилизацию  $\alpha\beta$ -гетеродимера чХГ, а также в  $\beta$ -складчатых структурах, локализованных в  $\beta$ -чХГ (L2, L3) и  $\alpha$ -чХГ (L3) [41].

138]. Несмотря на сходство “ремня безопасности” в  $\beta$ -ЧХГ и  $\beta$ -ЛГ, между их  $\beta$ -складчатыми структурами имеются существенные отличия, что влечет за собой различия в эффективности их взаимодействия с ЛГ/ХГ-Р и в способности активировать внутриклеточные каскады [41, 53].

Как и в других GPCR класса А, при активации ЛГ/ХГ-Р в ТМД меняется суперпозиция ТМ6 и взаимодействующих с ней ТМ5 и ТМ7. Изменение расположения ТМ и конфигурации внутренней полости ТМД является триггером конформационных изменений в G-белке, ассоциированном с цитоплазматическими петлями рецептора. Эти изменения способствуют ГДФ/ГТФ-обмену в  $\alpha$ -субъединице G-белка и ослабляют ее ассоциацию с G $\beta\gamma$ -димером, что приводит к активации зависимых от G-белков внутриклеточных каскадов. При связывании ЧХГ с ЛГ/ХГ-Р наблюдается перемещение C-концевого сегмента спирали ТМ6 наружу, и это сопровождается небольшим смещением наружу спирали ТМ5 и сдвигу внутрь спирали ТМ7 [41]. Оценка расстояния между сегментами ТМ6 и ТМ7 показала, что при связывании ЛГ/ХГ-Р с ЧХГ расстояние между ними увеличивается как в области внешнего вестибуля ТМД, так и в центральной его части, и это сопровождается увеличением объема внутренней полости ТМД [57]. Расширение входа в трансмембранный тоннель происходит и при связывании небольших лигандов с ТМД большого числа GPCR [118]. Результатом увеличения объема внутренней полости ТМД и изменения суперпозиции образующих его ТМ является изменение конформации проксимальных к мембране цитоплазматических участков второй и третьей цитоплазматических петель (ICL2, ICL3) и цитоплазматического C-концевого домена рецептора. Эти участки содержат основные детерминанты, ответственные за взаимодействие с G-белками и  $\beta$ -аррестинами, играющими ключевую роль в ЛГ/ХГ-Р-опосредуемой сигнальной трансдукции.

В основе изменений суперпозиции ТМ при активации ЛГ/ХГ-Р гонадотропином лежит изменение взаимодействия между LRR-субдоменом и шарнирной областью эктодомена, с одной стороны, и ТМД, в первую очередь внеклеточными петлями (ECL), формирующими внешний вестибуль трансмембранного тоннеля с другой [57]. В отсутствие гормональной активации взаимодействие между LRR-субдоменом и ТМД обеспечивает нахождение последнего в неактивном состоянии. После связывания с гонадотропином взаимодействие LRR-субдомена с ТМД ослабляется, на что указывает увеличение расстояния между ними. LRR-субдомен переходит в вертикальное по отношению к ТМД положение. Шарнирная область, напротив, в результате ее вращения сближается с внеклеточным вестибулем ТМД, одновременно удаляясь от LRR-субдомена [65]. При активации ЛГ/ХГ-Р

расстояние между LRR-субдоменом и ТМД повышается с 60 до 88 ангстрем, в то время как расстояние между шарнирной областью и ТМД сокращается с 79 до 48 ангстрем [65]. Ключевую роль в ассоциации эктодомена и ТМД ЛГ/ХГ-Р играют взаимодействия между спиралью шарнирной области и спиралью, образуемой средней частью ECL1, а также взаимодействия между C-концевым сегментом P10 шарнирной области и внешним вестибулем трансмембранного тоннеля, образованного внеклеточными окончаниями ТМ1, ТМ2 и ТМ7 [41, 57, 107]. Изменение характера этих взаимодействий при связывании ЛГ/ХГ-Р с гонадотропином влияет на взаимное расположение спиралей ТМ5, ТМ6 и ТМ7 и конформацию ТМД, что активирует внутриклеточный сигналинг.

Среди расположенных в эктодоме ЛГ/ХГ-Р детерминант, опосредующих его активацию ЛГ и ХГ, важную роль играет остаток  $\text{Tyr}^{331}$ , который подвергается сульфатированию и приобретает отрицательный заряд. Он расположен в середине шарнирной области и окружен отрицательно заряженными АКО, образуя кластер с высокой плотностью отрицательного заряда.  $\text{Tyr}^{331}$  и соседние с ним  $\text{Asp}^{330}$  и  $\text{Glu}^{332}$  электростатически взаимодействуют с положительно заряженными кластерами ЧХГ, контролируя взаимное расположение шарнирной области и ТМД. Их замены на другие АКО, нарушающие целостность анионного кластера, препятствуют взаимодействию с гонадотропином [33]. Другой важной детерминантой является  $\text{Ser}^{277}$ , участвующий в формировании спирали  $\text{Pro}^{272}$ - $\text{Asn}^{280}$ , локализованной в N-концевой части шарнирной области. Он опосредует взаимодействие этой спирали с ECL1 и модулирует устойчивость комплекса между эктодоменом и ТМД. Гидроксильная группа  $\text{Ser}^{277}$  способна образовывать водородную связь с  $\text{Asn}^{351}$ , расположенным в высококонсервативном участке P10 [41], который рассматривают как внутренний агонист ЛГ/ХГ-Р [17].

#### ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ КАСКАДЫ, МИШЕНИ ЛГ И ЧХГ

Специфическое связывание  $\alpha\beta$ -гетеродимеров ЛГ и ЧХГ с внеклеточным доменом ЛГ/ХГ-Р индуцирует в нем изменения, результатом чего являются перестройки, затрагивающие шарнирную область и контактирующие с ней ECL2 и ECL3. Взаимное расположение и конформационная подвижность ECL2 и ECL3 непосредственно влияют на структуру ТМД и на взаимодействие ICL2, в особенности ICL3 с G-белками и  $\beta$ -аррестинами. Используя многоступенчатый механизм конформационных перестроек, гонадотропины регулируют внутриклеточные каскады как посредством активации G-белков, так и путем рекрутирования в комплекс с рецептором адаптерных и регуляторных

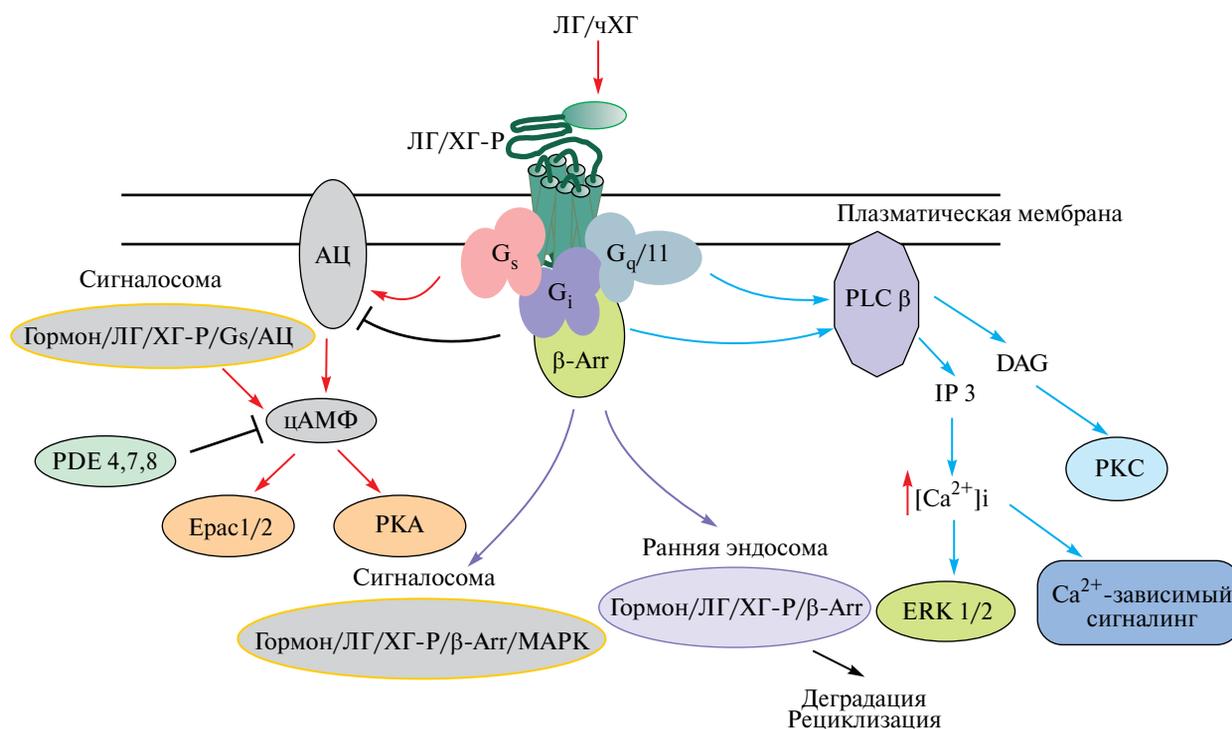
белков, в первую очередь  $\beta$ -аррестинов. Встроенные в мембрану ЛГ/ХГ-Р способны образовывать как гомодимерные (гомоолигомерные), так и гетеродимерные (гетероолигомерные) комплексы с другими GPCR, в том числе с ФСГР, что оказывает существенное влияние на механизмы и избирательность сигнальной трансдукции. Важную роль играет трансактивация ЛГ/ХГ-Р, когда гормон связывается с одним из протомеров комплекса, а трансдукция сигнала к внутриклеточным белкам осуществляется через другой протомер, причем последний может быть протомером другого GPCR, например ФСГР.

Определяющую роль в реализации гонадотропинового сигналинга, реализуемого через ЛГ/ХГ-Р, играют два пути [27, 68, 104]: цАМФ-зависимый – ЛГ/ХГ-Р– $G_s$ -белок–аденилатциклаза–цАМФ–протеинкиназа А (РКА)/факторы Ерас-семейства, и фосфолипазный – ЛГ/ХГ-Р– $G_{q/11}$ -белок–фосфолипаза С $\beta$  (PLC $\beta$ )–диацилглицерин (DAG)/инозитол-1,4,5-трифосфат (IP3)–протеинкиназа С (PKC)/кальциевый сигналинг. В клетках репродуктивной системы они участвуют в гонадотропин-индуцированной регуляции стероидогенеза, контроле пролиферации, ангиогенеза, апоптоза и других клеточных процессов. Существенную роль играют и  $\beta$ -аррестинные пути, через которые стимулируется каскад митогенактивируемых протеинкиназ (МАРК) и модулируется цАМФ-сигналинг. Предпочтительность выбора сигнального пути определяется соотношением активных конформаций рецептора, в которых он образует более прочный комплекс с определенным типом G-белка или  $\beta$ -аррестина. Различаются и молекулярные детерминанты, вовлеченные в формирование таких комплексов [26, 28, 101, 113]. Так, в рецепторе ЛГ/ХГ-Р за взаимодействие с  $G_s$ -белком в большей степени отвечает С-концевой участок третьей цитоплазматической петли, за взаимодействие с  $G_{q/11}$ -белком – его вторая цитоплазматическая петля, за взаимодействие с  $\beta$ -аррестинами – проксимальные к мембране участки С-хвостового домена, хотя в каждом случае связывающая поверхность может включать и другие сегменты цитоплазматических петель и их интерфейсов с ТМД. Немаловажную роль для селективности выбора G-белка играет образование рецепторных комплексов, в том числе гетерокомплексов ЛГ/ХГ-Р с ФСГР-Р [25] (рис. 2).

В случае цАМФ-зависимого пути  $G_s$ -опосредуемая активация АЦ гонадотропином приводит к синтезу цАМФ, вторичного посредника, который взаимодействует со специфичными к нему эффекторными белками, в первую очередь с РКА и факторами Ерас-семейства. Основной мишенью РКА являются цАМФ-регулируемые транскрипционные факторы, в том числе фактор CREB, контролирующей экспрессию множества генов. Мишенями факторов Ерас-семейства является

как CREB [141], так и другие эффекторные белки, в том числе  $Ca^{2+}$ -кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (CaMKII) [96], фосфатидилинозитол-3-киназа [87], компоненты каскада MAPK [63]. Все это расширяет спектр их физиологических эффектов в ответ на стимуляцию цАМФ. Помимо эффекторных компонентов цАМФ-сигналинга, важную, а в ряде случаев и определяющую роль в его регуляции играют фосфодиэстеразы (PDE), вызывающие деградацию цАМФ, тем самым терминирующие передачу цАМФ-сигнала внутрь клетки, а также scaffold-белки, формирующие микродомены, обеспечивающие тесное взаимодействие между компонентами цАМФ-пути. При этом активность PDE может определяться многими факторами, среди которых степень активации АЦ и вызванное этим повышение уровня цАМФ в клетке (короткая отрицательная обратная связь), изменение кальциевого сигналинга и стимуляция форбол-чувствительных изоформ PKC, а также изменение паттерна и активности MAPK, в том числе индуцированных гонадотропинами. В клетках мужской и женской репродуктивной системы присутствуют PDE4, PDE7 и PDE8, которые высоко селективны по отношению к цАМФ и осуществляют гидролиз цАМФ до АМФ. В яичниках изоформы PDE8A и PDE8B в значительных количествах обнаруживаются в клетках теки и ооцитах, PDE4A – в ооцитах и соединительной ткани, PDE4C и PDE4D – в фолликулах, PDE7A и PDE7B – в ооцитах, PDE4B – в наружном слое клеток теки [100]. В клетках Лейдига показана высокая активность изоформ PDE8A и PDE8B, вовлеченных в регуляцию и модуляцию стероидогенных эффектов гонадотропинов. Их ингибирование усиливает трансдукцию ЛГ-сигнала, подобно тому, как это происходит при гормональной стимуляции [109].

В случае фосфолипазного пути, реализуемого при активации  $G_{q/11}$ -белка, происходит активация фосфоинозитид-специфичной PLC $\beta$ , результатом чего является гидролиз фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата и генерация двух вторичных посредников – мембранно-связанного DAG и водорастворимого IP3. DAG активирует форбол-чувствительные изоформы PKC, в то время как IP3 мобилизует ионы кальция из внутриклеточных депо [86, 142]. Регуляторные эффекты IP3 реализуются путем его связывания с IP3-рецепторами, локализованным в мембране эндоплазматического ретикула, что приводит к утечке ионов кальция из внутриклеточных депо, повышению их концентрации в примембранном пространстве эндоплазматического ретикула и, как следствие, к активации  $Ca^{2+}$ -активируемых рיאодиновых рецепторов, имеющих высокую проводимость для  $Ca^{2+}$  [126]. Стремительное повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле приводит к активации большого числа  $Ca^{2+}$ -регулируемых белков, в первую



**Рис. 2.** Сигнальные пути, реализуемые через ЛГ/ХГ-Р, а также эндосомальный сигналинг, осуществляемый с участием гонадотропин-связанного ЛГ/ХГ-Р. *Обозначения:* ЛГ/ХГ-Р – рецептор ЛГ и чХГ; АЦ – аденилатциклаза; цАМФ – 3'-5'-циклический аденозинмонофосфат; PKA – протеинкиназа А; PDE4,7,8 – цАМФ-активируемые фосфодиэстеразы типов 4, 7 и 8; Ерас1/2 – обменные белки типов 1 и 2, активируемые циклическим АМФ; G<sub>s</sub>, G<sub>i</sub>, G<sub>q/11</sub> – αβγ-гетеротримерные белки, стимулирующие (G<sub>s</sub>) или ингибирующие (G<sub>i</sub>) АЦ и активирующие кальциевый сигналинг (G<sub>q/11</sub>); β-Арр – β-аррестин; ERK1/2 – киназы типов 1 и 2, регулируемые внеклеточными сигналами; PLCβ – фосфоинозитид-специфическая фосфолипаза β; DAG – диацилглицерин; IP3 – инозитол-3,4,5-трифосфат; [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> – внутриклеточная концентрация Ca<sup>2+</sup>; PKC – форболчувствительные изоформы протеинкиназы С.

очередь Ca<sup>2+</sup>-кальмодулин-зависимых, среди которых ключевую роль играют различные изоформы Ca<sup>2+</sup>-кальмодулин-зависимой протеинкиназы II [86].

Адаптерные белки β-аррестины, которые, как и G-белки, взаимодействуют с ICL и ориентированным внутрь клетки вестибулем трансмембранного тоннеля, присутствуют во всех типах клеток и тканей и вовлечены в контроль многих физиологических процессов [78, 131]. Важное значение для сигналинга, реализуемого через ЛГ/ХГ-Р, имеют две формы β-аррестинов – βarr1 и βarr2. Их основной функцией является способность нарушать взаимодействие лиганд-активированного GPCR с G-белком и вызывать интернализацию лиганд-рецепторного комплекса в составе ранней эндосомы внутрь клетки [29]. Наряду с этим β-аррестины образуют с GPCR активный комплекс, наделенный собственными сигнальными функциями, который опосредует активацию ряда внутриклеточных эффекторов, в том числе ERK1/2, компонентов MAPK [131].

β-Аррестин-опосредуемая десенситизация GPCR обусловлена взаимодействием β-аррестина с сайтами рецептора, которые после гормональной активации подвергаются фосфорилированию либо специфичными GPCR-киназами (GRK), либо низкоспецифичными PKA и PKC. В цитоплазматических участках GPCR, включая ЛГ/ХГ-Р, имеются несколько сайтов-мишеней для фосфорилирования протеинкиназами, и паттерн фосфорилирования зависит от множества факторов. Это структурные особенности активной, гормон-связанной, конформации рецептора, его способность образовывать комплексы, тип и соотношение G-белков, типовая принадлежность воздействующих на рецептор протеинкиназ, включая различные изоформы GRK. Паттерн фосфорилирования GPCR является “фосфокодом”, предопределяющим дальнейшие сигнальные события с участием β-аррестинов. Тем самым, предпочтительными становятся либо интернализация и последующая деградация или рециклизация GPCR, либо формирование сигнаlosомы, включающей комплекс GPCR–β-аррестины.

Следует, однако, отметить, что структурные различия ЛГ и чХГ, в том числе в связи с различиями в гликозилировании, и многоцентровое (помимо внеклеточного ортостерического сайта) их взаимодействие с молекулой рецептора, в том числе включающее контакты, прямые или опосредованные, с аллостерическими сайтами, приводят к существенным различиям воздействия обоих гормонов на ЛГ/ХГ-Р и к различиям в их физиологических эффектах. Основные черты сходства и различий сигналинга, индуцированного ЛГ и чХГ, обусловленные аллостерическими механизмами их влияния на активность ЛГ/ХГ-Р, будут рассмотрены ниже.

### СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ ЭФФЕКТОВ ЧХГ И ЛГ НА СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

#### *цАМФ-сигналинг*

Еще в начале 1990-х гг. было показано, что ЛГ и чХГ стимулируют активность АЦ и повышают уровень цАМФ в ооцитах лягушки и в культуре L-клеток кишечника с экспрессированным ЛГ/ХГ-Р мыши [54, 55]. Они также стимулировали фосфолипазный каскад и вызывали мобилизацию  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо. Оба процесса были независимы, что свидетельствовало об отсутствии значимого взаимодействия между сигнальными каскадами, реализуемыми через  $G_s$ - и  $G_{q/11}$ -белки [54, 55]. Повышение уровня цАМФ и подъем внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  после активации гонадотропинами происходили достаточно быстро, в среднем через 1 мин, что указывает на сходную кинетику этих процессов [4, 120].  $G_i$ -белки, с которыми также способен взаимодействовать ЛГ/ХГ-Р, могут быть вовлечены как в негативную регуляцию АЦ после ее стимуляции гонадотропином (короткая отрицательная обратная связь), так и быть донорами  $G\beta\gamma$ -димера, вовлеченного в активацию PLC $\beta$ 2 и PLC $\beta$ 3, ответственных за активацию кальциевого сигналинга и различных изоформ PKC [61]. Активация АЦ с помощью ЛГ и чХГ повышала фосфорилирование фактора CREB и усиливала зависимость от него экспрессию гена, кодирующего холестерин-транспортирующий белок StAR, катализирующий первую стадию стероидогенеза [104]. Тем самым, механизмы влияния ЛГ и чХГ на АЦ характеризуются определенным сходством. Однако эффективность такого влияния различается и весьма существенно [22, 104].

Большинство данных, полученных с использованием клеточных культур, демонстрируют более высокий потенциал чХГ в сравнении с ЛГ в отношении активации АЦ и PKA. В COS-7-клетках с экспрессированным ЛГ/ХГ-Р показано, что ED<sub>50</sub> для стимулирующего АЦ эффекта чХГ составляет  $107 \pm 14$  пмоль/л, в то время как соответствующий показатель для ЛГ в 5 раз выше [22]. При этом

кинетики активации АЦ имела другой характер, и при использовании чХГ максимальное повышение уровня цАМФ в клетке достигалось через 1 ч и более, в то время как при использовании ЛГ это происходило всего через 10 мин [22]. Повышение уровня цАМФ в НЕК-293 клетках при воздействии чХГ по величине было также существенно выше, чем при воздействии ЛГ [80]. В наибольшей степени различия в эффективности ЛГ и чХГ были выражены в клетках гранулы яичников [26]. Обработка первичной культуры клеток гранулы яичников человека в течение 36 ч с помощью чХГ вызывала более выраженное и устойчивое во времени повышение уровня цАМФ в сравнении с обработкой рекомбинантным ЛГ, взятым в той же дозе. В результате в культуре с обработкой чХГ продукция прогестерона была значимо выше, чем в контроле и в культуре с обработкой ЛГ, что свидетельствует о более выраженной стимуляции овариального стероидогенеза, вызываемого чХГ [22]. Сходные результаты были получены при обработке гонадотропинами культивируемых клеток гранулы яичников козы, где чХГ с существенно большей эффективностью, чем ЛГ, повышал внутриклеточный уровень цАМФ и активировал PKA [56]. Стимулирующий эффект чХГ на уровень цАМФ и цАМФ-зависимое фосфорилирование ERK1/2 при обработке культуры клеток Лейдига также значительно превышал соответствующие эффекты ЛГ, в случае стимуляции продукции цАМФ – почти в 10 раз [104].

Следует отметить, что такие зависимые от цАМФ показатели, как фосфорилирование CREB и экспрессия гена белка StAR в культуре клеток Лейдига и в НЕК273-клетках, обработанных чХГ и ЛГ, значимо не различались [26, 104]. Это может быть обусловлено контррегуляторными влияниями, которые запускаются при длительном повышении концентрации цАМФ, среди которых значимую роль имеет повышение активности цАМФ-специфичных PDE. Не менее интересен тот факт, что продукция прогестерона в различных типах клеток, обработанных чХГ, была существенно выше, чем при обработке ЛГ, в то время как уровни тестостерона при этом различались слабо [105]. Такое нивелирование различий на уровне концентрации тестостерона обусловлено тем, что при воздействии ЛГ для синтеза тестостерона в большей степени реализуется путь, включающий вместо прогестерона в качестве промежуточного метаболита 17-гидроксипрогестерон ( $\Delta^5$ -путь), в то время как чХГ обеспечивает синтез больших количеств прогестерона, выполняющего функцию “продукта параллельного накопления”, который затем поступает в менее эффективный  $\Delta^4$ -путь синтеза андрогенов. Результатом является выравнивание продукции тестостерона, вызываемое обоими гонадотропинами, на более поздних стадиях тестикулярного

стероидогенеза, несмотря на значительно большее количество прогестерона, накапливаемого в клетках, обработанных чХГ [105].

Изучение эффектов чХГ и ЛГ в гранулезно-лютеиновых клетках человека показало, что чХГ не только с большей эффективностью в сравнении с ЛГ стимулирует фосфорилирование фактора CREB и повышает экспрессию гена, кодирующего StAR, но и в большей степени стимулирует проапоптотические процессы [24]. В отношении регуляции экспрессии гена ароматазы ситуация обратная, и стимулирующий эффект ЛГ через 72 ч после обработки превосходил таковой чХГ, что обуславливало повышение ароматазной активности и стимуляцию конверсии андрогенов в эстрогены, необходимых для поддержания роста фолликулов и ооцита и повышающих выживаемость гранулезно-лютеиновых клеток [24]. Необходимо отметить, что ЛГ также более эффективно в сравнении с чХГ повышал экспрессию генов, кодирующих антиапоптотический белок XIAP и циклин D2, оказывая выраженный антиапоптотический эффект [24]. Это указывает на то, что ЛГ-стимулированные цАМФ-зависимые пути характеризуются в большей степени антиапоптотическим потенциалом, в то время как соответствующие пути, активируемые чХГ, являются триггерами проапоптотических каскадов.

Важным обстоятельством является то, что стимулирующие АЦ эффекты чХГ и ЛГ по-разному модулируются ФСГ. Это обусловлено как гетероди(олиго)меризацией ЛГ/ХГ-Р и структурно близкого ему ФСГР, что меняет эффективность и паттерн их активации гонадотропинами, так и кросс-взаимодействием внутриклеточных каскадов, активируемых ФСГ и гонадотропинами с ЛГ-активностью. С использованием гранулезно-лютеиновых клеток человека показано, что в присутствии ФСГ способность чХГ усиливать продукцию цАМФ повышается в 5 раз, что ведет к усилению фосфорилирования CREB и стероидогенного ответа на чХГ [25]. АЦ эффект рекомбинантного ЛГ в присутствии ФСГ существенно не менялся, вследствие чего совместная обработка клеток с помощью рекомбинантного ЛГ и ФСГ не приводила к значимому повышению фосфорилирования CREB и продукции стероидных гормонов. Интересно, что ФСГ потенцирует стимулирующие эффекты ЛГ (но не чХГ) на активность ERK1/2, ключевого звена каскада MAPK, и на активность Akt-киназы, важнейшего медиатора антиапоптотических процессов, что повышает выживаемость клеток [25]. Эффект ФСГ на чХГ- и ЛГ-индуцированный сигналинг хорошо согласуется с мощным пролиферативным потенциалом эндогенного ЛГ в фолликулярную фазу и после образования трофобласта, а также с сильно выраженным стероидогенным эффектом плацентарного чХГ, что необходимо для

поддержания беременности после выхода из лютеиновой фазы.

При длительном стимулирующем воздействии гонадотропинов на клетки-мишени (от нескольких часов до нескольких дней в зависимости от объекта исследования) отмечается значительное снижение плотности ЛГ/ХГ-Р на поверхности клеток, в основе лежит интернализация лиганд-рецепторных комплексов в составе ранних эндосом во внутриклеточные компартменты. Фактором, который ускоряет процесс интернализации ЛГ/ХГ-Р, является образование значительных по размеру ЛГ/ХГ-Р-содержащих агрегатов [64]. Такие агрегаты значительно быстрее и в больших количествах образуются при связывании ЛГ/ХГ-Р с чХГ, чем при их связывании с ЛГ, и это обуславливает более высокую скорость и интенсивность десенситизации и даун-регуляции ЛГ/ХГ-Р при активации чХГ [62]. В клетках без обработки чХГ значительная часть ЛГ/ХГ-Р локализовалась в крупных мембранных структурах, которые были способны эффективно встраиваться в плазматическую мембрану. Как только чХГ удаляли из среды, крупные агрегаты постепенно диссоциировали и высвобождавшиеся из них ЛГ/ХГ-Р перемещались в мембранные везикулы, обретая способность транслоцироваться в плазматическую мембрану и связываться с гормоном [65]. При этом ЛГ с меньшей интенсивностью индуцировал образование больших ЛГ/ХГ-Р агрегатов, что обеспечивало менее выраженное снижение чувствительности клеток-мишеней к гонадотропинам с ЛГ-активностью и к более быстрому ее восстановлению после десенситизации ЛГ/ХГ-Р, вызванной длительным воздействием гонадотропина [105].

#### *Фосфолипазные пути*

Как в семенниках, так и в яичниках, активируемые гонадотропинами фосфолипазные пути, реализуемые через  $G_{q/11}$ -белки, играют не менее важную роль в ЛГ-опосредуемом сигналинге, чем цАМФ-зависимые пути [68].  $G_{q/11}$ -опосредуемая активация PLC $\beta$  необходима для нормального протекания овуляции, обеспечивая надлежащую активацию рецепторов прогестерона и разрыв фолликула [84]. В то же время необходимо отметить, что такие важные для овуляции процессы, как возобновление мейоза, разрастание слоя кумулюсных клеток и овариальный ангиогенез, опосредуемые в основном через ЛГ-активируемые цАМФ-пути, нормально протекают в клетках гранулезы, дефицитных по генам  $G_{q/11}$ -субъединиц, т. е. непосредственно от фосфолипазного сигналинга не зависят [84].

В отличие от цАМФ-сигналинга для активации фосфолипазных путей требуются существенно более высокие концентрации гонадотропинов. EC<sub>50</sub>

для чХГ, обеспечивающее активацию PLC $\beta$  и IP3-опосредуемую мобилизацию кальция из внутриклеточных депо, в 20 раз выше EC<sub>50</sub> для чХГ, требуемого для полумаксимальной активации АЦ [146]. Стимулирующее влияние чХГ на накопление IP3 в большей степени выражено при высокой плотности ЛГ/ХГ-Р и снижается при их низкой плотности, что указывает на предпочтительность взаимодействия гормон-активированного ЛГ/ХГ-Р с G<sub>s</sub>-, но не с G<sub>q/11</sub>-белком. Эффективность стимулирующего влияния чХГ на мобилизацию Ca<sup>2+</sup> через 1 мин после обработки была существенно выше, чем таковая для ЛГ, но со временем различия нивелировались, что обусловлено активацией откачки Ca<sup>2+</sup> из цитозоля. Вследствие этого интегрированные значения для повышения концентрации Ca<sup>2+</sup> в цитозоле в ответ на чХГ и ЛГ в течение трехминутного интервала различались слабо [80].

Необходимо различать механизмы, обусловленные активацией PLC $\beta$ -путей, от механизмов, включающих активацию кальциевых каналов плазматической мембраны L-типа, которые вносят значимый вклад в стероидогенные эффекты гонадотропинов. Важно отметить, что активация этих каналов реализуется в основном через  $\beta\gamma$ -димер G-белка, донатором которых являются G<sub>i</sub>-белки, также являющиеся мишенями ЛГ и чХГ [70]. При этом вход Ca<sup>2+</sup> в клетку необходим для пополнения запасов Ca<sup>2+</sup> во внутриклеточных депо. Первые данные об участии кальциевых каналов плазматической мембраны в стимулирующем эффекте чХГ на экспрессию стероидогенных белков и стероидогенез были получены в экспериментах на опухолевых клетках Лейдига мыши [81]. В Ca<sup>2+</sup>-обогащенной среде стимулирующий эффект чХГ на экспрессию гена, кодирующего StAR, усиливался в 1.7 раза, и это было ассоциировано со значительным повышением продукции прогестерона. При добавлении во внеклеточную среду комплексобразователей, связывающих Ca<sup>2+</sup>, или блокатора кальциевых каналов верапамила отмечали резкое снижение чХГ-индуцированной стимуляции стероидогенеза [81]. В дальнейшем роль кальциевых каналов L-типа в модуляции гонадотропин-стимулированного стероидогенеза была показана на клетках гранулезы крысы. Было продемонстрировано ингибирующее влияние амфетамин, снижающего концентрацию внутриклеточного Ca<sup>2+</sup>, на стимулированную гонадотропинами экспрессию стероидогенных белков в яичниках и на овариальный стероидогенез в целом [30].

Внутриклеточный кальциевый сигналинг вовлечен не только в стероидогенные эффекты ЛГ и чХГ, но и в реализации их пролиферативных эффектов, как это показано для ЛГ при действии на клетки эпителиального рака яичников OV207 и OVCA-3 [85]. В основе пролиферативных эффектов ЛГ лежит активация каскада MAPK, в том

числе его конечного звена ERK1/2, причем ЛГ-индуцированная стимуляция ERK1/2 осуществляется как путем активации кальциевых каналов L-типа, так и через стимуляцию одного из конечных компонентов фосфолипидного пути – протеинкиназы С $\delta$ . Индуцированная ЛГ миграция и пролиферация клеток рака яичников подавлялась при ингибировании стимулирующего ERK1/2 эффекта гонадотропина, что может быть достигнуто снижением концентрации Ca<sup>2+</sup> во внеклеточной среде с помощью комплексобразователей, ингибированием кальциевого тока через плазматическую мембрану с помощью блокатора кальциевых каналов верапамила и путем подавления выброса Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо с помощью дантролена. Стимулирующие эффекты ЛГ на ERK1/2 подавлялись также ингибиторами протеинкиназы С $\delta$  [85].

Поскольку чХГ с гораздо более высокой эффективностью активирует цАМФ-пути, то не удивительно, что он с существенно меньшей эффективностью влияет на фосфолипидные пути и ассоциированную с ними активность ERK1/2 и, соответственно, имеет низкий пролиферативный потенциал, более того, он наделен антипролиферативной активностью. В пользу этого свидетельствуют результаты сравнительного исследования длительной экспозиции первичной культуры клеток гранулезы козы с ЛГ и чХГ [56]. ЛГ в значительной степени стимулирует активность DAG-чувствительной PKC и значительно повышает фосфорилирование ERK1/2, что ассоциировано с активацией ERK1/2-опосредуемой пролиферации фолликулярных клеток, в то время как чХГ на эти показатели не влияет и, напротив, снижает пролиферацию клеток гранулезы, действуя через цАМФ-зависимые механизмы [56]. Эти данные свидетельствуют о различном паттерне воздействия ЛГ и чХГ на фосфолипидные пути, вовлеченные в контроль клеточного роста и дифференцировки.

#### *Индуцированное чХГ и ЛГ взаимодействие рецептора ЛГ/ХГ с $\beta$ -аррестинами*

После активации ЛГ/ХГ-Р гонадотропином запускается процесс рекрутирования  $\beta$ -аррестинов, результатом чего является интернализация лиганд-рецепторного комплекса в составе ранних эндосом внутрь клетки. Это приводит либо к деградации ЛГ/ХГ-Р, либо к индукции внутриклеточного сигналинга [26]. Механизмы взаимодействия с  $\beta$ -аррестинами для ЛГ/ХГ-Р отличаются от таковых в случае ФСГР, поскольку ЛГ/ХГ-Р способен рекрутировать  $\beta$ -аррестины, находясь в нефосфорилированном состоянии, вследствие чего ЛГ-регулируемые  $\beta$ -аррестинные пути не являются зависимыми от паттерна и активности киназ GRK-семейства [89]. Во взаимодействии ЛГ/ХГ-Р с  $\beta$ -аррестинами вовлечены ICL3 этого рецептора и АДФ-рибозилирующий фактор 6 (ARF6) [28, 89]. В

неактивном, ГДФ-связанном состоянии ARF6 связывается с  $\beta$ -аррестином, и образовавшийся комплекс закоривается в плазматической мембране, будучи доступен для взаимодействия с цитоплазматическими участками ЛГ/ХГ-Р. После активации ЛГ/ХГ-Р гонадотропином происходит образование транзитного комплекса между рецептором и ARF6, что приводит к обмену ГДФ на ГТФ в нуклеотидсвязывающем сайте ARF6. При этом происходит реорганизация комплекса между активной, ГТФ-связанной, формой ARF6 и  $\beta$ -аррестином, в результате чего последний высвобождается из комплекса с ARF6 и связывается с ICL3 ЛГ/ХГ-Р, что и обеспечивает даун-регуляцию и интернализацию лиганд-рецепторного комплекса [116].

Сравнительный анализ влияния ЛГ и чХГ на рекрутирование  $\beta$ -аррестин-демонстрирует, что чХГ более активен, вызывая  $\beta$ -аррестин-опосредуемые эффекты значительно быстрее и при более низких концентрациях. На это указывает  $EC_{50}$  для чХГ-индуцированного рекрутирования  $\beta$ arг2 в опухолевых клетках Лейдига мыши (10 нМ), которое в 13 раз ниже, чем для ЛГ (130 нМ). Исходя из величины стимулирующего эффекта на рекрутирование  $\beta$ -аррестина, ЛГ определяют как частичный агонист ЛГ/ХГ-Р, в отличие от чХГ, демонстрирующего активность полного агониста  $\beta$ -аррестин-специфичного сигналинга [105]. Как отмечалось выше, ключевую роль в стимуляции стероидогенеза играют цАМФ-пути, и чХГ является более эффективным активатором стероидогенеза в сравнении с ЛГ, включая стадию синтеза прогестерона. В связи с этим представляет интерес, что  $\beta$ -аррестины положительно регулируют синтез прогестерона гонадотропином, поскольку снижение их экспрессии с помощью микроРНК ингибирует продукцию этого гормона, прекурсора андрогенов и эстрогенов [105]. Поскольку чХГ более эффективно стимулирует рекрутирование  $\beta$ -аррестин-демонстрирует, то этот его эффект, наряду с более выраженной стимуляцией АЦ, может обеспечивать более высокую стероидогенную активность чХГ, которая, однако, ограничивается стадией синтеза прогестерона.

Более низкая активность ЛГ в отношении  $\beta$ -аррестин-демонстрирует, что  $\beta$ -аррестины позволяют предотвратить или снизить интернализацию и даун-регуляцию ЛГ/ХГ-Р при длительном воздействии даже сравнительно высоких концентраций ЛГ, сохраняя тем самым чувствительность клеток к эндогенным гонадотропинам и препятствуя истощению пула активных ЛГ/ХГ-Р в плазматической мембране и во внутриклеточных компартментах. Активирующие мутации в ЛГ/ХГ-Р, такие как замена локализованного в ICL3 Asp<sup>564</sup> на глицин или тирозин, вызывают значительное (в случае Asp<sup>564</sup>Gly пятикратное) повышение интернализации конститутивно активного ЛГ/ХГ-Р внутрь клетки [16]. Активирующие мутации индуцируют те же конформации ЛГ/ХГ-Р, что и чХГ, о

чем свидетельствует отсутствие влияния чХГ на перераспределение мутантных ЛГ/ХГ-Р в мембранных микродоменах, обусловленное взаимодействием с  $\beta$ -аррестинами [77].

Все вышесказанное можно обобщить в виде табл. 1, демонстрирующей черты сходства и различий сигнальных механизмов действия ЛГ и чХГ на клетки-мишени.

### ***N*- И *O*-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ГОНАДОТРОПИНОВ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ СИГНАЛЬНОЙ ТРАНСДУКЦИИ**

*Число, структура и заряд N-гликанов  
и их влияние на функциональную активность  
гонадотропинов и их физиологические эффекты*

Ключевую роль для активности гонадотропинов и их сигнальных каскадов играет *N*-гликозилирование и, в случае чХГ и других ХГ, также *O*-гликозилирование. Как отмечалось выше (см. рис. 1),  $\alpha$ -субъединица, общая для ЛГ и ХГ, подвергается *N*-гликозилированию по двум сайтам (Asn<sup>52</sup>, Asn<sup>78</sup>), в то время как  $\beta$ -ЛГ и  $\beta$ -ХГ имеют, соответственно, один и два сайта. Наряду с различиями в степени гликозилирования и локализации гликанов в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах не менее важную роль в гонадотропин-индуцированной сигнальной трансдукции играют природа и заряд олигосахаридных цепей. Так, в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах ЛГ и гипофизарной формы чХГ значительная часть олигосахаридных цепей содержат терминальные остатки сульфатированного GalNAc, которые несут значительный отрицательный заряд, в плацентарном чХГ и в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах ФСГ на концах *N*-гликанов локализованы в основном остатки сиаловых кислот, отрицательный заряд которых менее выражен [15]. При этом суммарный заряд *N*-гликана определяется количеством и соотношением концевых гликозильных остатков, что, в свою очередь, зависит от степени разветвленности *N*-гликана. *N*-гликаны в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах ЛГ и чХГ менее разветвленные, чем в ФСГ, и это не только вносит значительный вклад в результирующий заряд этих субъединиц, но и определяет их пространственную конфигурацию и способность связываться с ЛГ/ХГ-Р.

Структура *N*-гликанов в  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицах, образующих димерный гонадотропин, может сильно различаться, что обусловлено различиями в их посттрансляционном процессинге, в том числе в машинерии их *N*-гликозилирования, а также в интенсивности обмена и реассоциации этих субъединиц. С учетом высокой вариабельности гликозилирования  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц гонадотропинов [19, 34, 49], общее число гликоформ  $\alpha\beta$ -гетеродимеров ЛГ и ХГ может даже у одного организма быть очень

Таблица 1. Сходство и различия в активации сигнальных путей ЛГ и чХГ в клетках-мишенях

Путь	Сходство	Различия
цАМФ-сигнальный путь	Действуя на тестикулярные клетки Лейдига и фолликулярные клетки яичников, ЛГ и чХГ посредством $G_s$ -белков стимулируют АЦ, повышают уровень цАМФ внутри клеток, активируют ПКА и цАМФ-зависимые эффекторные белки и транскрипционные факторы, в том числе фактор CREB	АЦ эффект чХГ более выражен, реализуется в более низких концентрациях, значителен в клетках гранулезы, на которые ЛГ действует слабо. чХГ через цАМФ-зависимые механизмы стимулирует ERK1/2, что обуславливает его проапоптотический эффект, в то время как ЛГ через АЦ-систему не активирует MAPK и демонстрирует антиапоптотический эффект
Фосфолипазный путь	Оба гормона посредством $G_{q/11}$ -белков и PLC $\beta$ повышают уровень кальция в клетке, стимулируя его выход из внутриклеточных депо, и активируют форбол-чувствительные изоформы PKC. Для активации фосфолипазного пути требуются более высокие концентрации ЛГ и чХГ, чем для активации АЦ-пути	Эффект чХГ на фосфолипазный каскад менее выражен, чем таковой ЛГ, и в значительной степени зависит от концентрации внеклеточного кальция. Активируя $G_{q/11}$ -белки в клетках гранулезы яичников, ЛГ индуцирует PKC-зависимую активацию ERK1/2, результатом чего является его мощный митогенный эффект, который не выявляется у чХГ
$\beta$ -аррестинный путь	Оба гонадотропина стимулируют рекрутирование $\beta$ -аррестинов, что приводит к эндоцитозу активированного гормоном ЛГ/ХГ-Р, а также стимулирует эндосомальный $\beta$ -аррестинный сигналинг	Стимулирующий эффект чХГ на рекрутирование $\beta$ -аррестинов более выражен и реализуется в более низких концентрациях, чем таковой ЛГ. Это приводит к быстрому ослаблению чувствительности ЛГ/ХГ-Р к гормональной стимуляции, а также к деградации рецепторов, в том числе вследствие мощной агрегации в эндосомах

значительным и исчисляться десятками, сотнями и даже тысячами вариантов [49]. Взаимодействие гонадотропинов с ЛГ/ХГ-Р сильно зависит от их гликозилирования, вследствие чего результирующий эффект воздействия гонадотропина на клетку-мишень находится в прямой зависимости от соотношения и паттерна его гликоформ. Учитывая особенности расположения *N*-гликанов в гонадотропинах, а также *O*-гликанов в *C*-концевой части ХГ, имеются основания считать, что гликозильные компоненты способны взаимодействовать с сайтами рецептора, отличными от его ортостерического сайта, тем самым аллостерически влияя на сродство гормона к ЛГ/ХГ-Р, на предвзятость сигналинга и эффективность клеточного ответа [19, 28, 50, 133]. Это имеет большое значение для оценки биологической активности рекомбинантных и природных форм чХГ, в том числе выделенных из различных источников и различными способами, а также в оценке отличий рекомбинантного ЛГ от эндогенного ЛГ при их использовании во вспомогательных репродуктивных технологиях [49].

Необходимость соответствия природным гликоформам рекомбинантных форм ЛГ и чХГ, а также гормонов с ЛГ-активностью, синтезированных химическим путем, является одной из наиболее сложно разрешимых проблем современной фармакологии, будучи основным препятствием для создания физиологически релевантных препаратов ЛГ и чХГ [48, 49].

Большинство данных по влиянию *N*-гликозилирования на связывающие характеристики и активность гонадотропинов получены для ФСГ, что во многом предопределено интенсивной разработкой препаратов ФСГ для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях [19]. И эти данные свидетельствуют о том, что *N*-гликаны являются важнейшими аллостерическими модуляторами ФСГ-сигналинга, контролируя его эффективность и предвзятость.

Несмотря на отличия в структурной организации ФСГ и его рецептора, а также *N*-гликанов, модифицирующих  $\alpha$ - и  $\beta$ -ФСГ, от таковых ЛГ, чХГ и ЛГ/ХГ-Р, основные закономерности влияния

*N*-гликозилирования на активность справедливы и для гонадотропинов с ЛГ-активностью. Так, нормально или слабо гликозилированные формы чХГ, с большей эффективностью стимулируют цАМФ-пути, и, как следствие, их действие в основном направлено на стимуляцию стероидогенеза, в то время как гипергликозилированные формы чХГ в этом отношении менее активны [73], а их эффекты реализуются в направлении стимуляции митогенных путей, в которые могут быть вовлечены рецепторы, отличные от ЛГ/ХГ-Р [11]. При этом важную роль играет стабильность чХГ, поскольку нормально или слабо гликозилированные формы гормона имеют более короткое время полужизни в кровотоке, в отличие от гипергликозилированных форм, в которых сайты для протеолитического расщепления экранированы множеством гликозильных групп [31]. Важную информацию дает изучение взаимодействия гликозилированных форм ТТГ с ТТГ-Р, структурно близких ЛГ/ХГ-Р [132]. Интересен тот факт, что гипергликозилированные (но не нормально гликозилированные) формы чХГ способны стимулировать ТТГР, повышая уровень тиреоидных гормонов, чем может быть обусловлен повышенный риск выкидышей и развитие аутоиммунных заболеваний щитовидной железы на ранних сроках беременности [119], особенно в случае экспрессии варианта ТТГР с заменой Val<sup>597</sup> на изолейцин в ТМД, имеющем гиперчувствительность к чХГ [21].

В пользу аллоsterической природы влияния *N*- и *O*-гликозилирования гонадотропинов на их активность свидетельствуют следующие факты.

*N*-гликаны в молекулах гонадотропинов аллоsterически модулируют их связывание с рецептором

Постулируется модулирующая роль *N*-гликанов в процессе связывания гормона с рецептором, без их взаимодействия с ортостерическим сайтом. Предполагается, что высокоаффинное связывание гликопротеинового гормона с ортостерическим сайтом рецептора должно включать почти исключительно специфическое взаимодействие между его АКО и их кластерами, т. е. основываться на принципах белок-белкового взаимодействия [67, 94]. Взаимодействия между *N*-гликаном и полипептидной цепью не могут быть высокоспецифичными и высокоаффинными, поскольку структура *N*-гликанов переменна, и потому они могут быть вовлечены во взаимодействие с ортостерическим сайтом лишь опосредованно, модулируя его связывание через аллоsterические механизмы. Действительно, дегликозилированные формы гонадотропинов не только сохраняют способность связываться с рецептором, но и в ряде случаев их аффинность превосходит таковую гликозилированных форм [18, 66]. В согласии с вышесказанным

находятся данные об отсутствии *N*-гликанов в области сайтов связывания гипофизарных гликопротеиновых гормонов и их рецепторов. У всех изученных видов позвоночных в рецепторах ЛГ/ХГ-Р, ФСГР и ТТГР имеются четыре области, свободные от *N*-гликанов, в том числе две на вогнутых гранях LRR-субдомена, ответственных за связывание гормона [94]. В то же время имеются основания считать, что *N*-гликаны могут влиять на взаимное расположение и эффективность взаимодействия между связывающими сайтами гормона и рецептора, в том числе путем изменения взаимной ориентации эктодомена и ТМД, и это влияет на паттерн активных конформаций лиганд-рецепторного комплекса [19, 83].

*и селективность сигнальной трансдукции N*-гликозилирование гонадотропинов влияет на эффективность

*N*-гликозилирование непосредственно влияет на эффективность регуляторного влияния гонадотропинов на внутриклеточные эффекторы, включая цАМФ-зависимые каскады и кальциевый сигналинг, и, как следствие, на физиологический ответ. Наличие или отсутствие *N*- и (или) *O*-гликанов способно менять фармакологический профиль гонадотропина, что впервые было продемонстрировано еще более 30 лет назад. Было показано, что дегликозилирование приводит к снижению или полной потере специфической активности [106], а в ряде случаев дегликозилированные формы гонадотропинов приобретали свойства антагонистов ЛГ/ХГ-Р [45]. При этом связывание дегликозилированных гонадотропинов с рецептором сохранялось, хотя его аффинность и менялась, и это указывает на аллоsterический характер влияния гликанов в молекуле ЛГ или чХГ на активацию ЛГ/ХГ-Р. Одним из механизмов, которые могут лежать в основе влияния степени и паттерна *N*-гликозилирования гонадотропинов на их способность активировать рецептор, является воздействие *N*-гликанов на взаимное расположение эктодомена и ТМД. В случае стабилизации *N*-гликозилированным гонадотропином активной конформации рецептора, в которой обеспечивается эффективное взаимодействие между участками шарнирной области эктодомена и ECL1 и сегментами внешнего вестибуля ТМД, происходит запуск сигнального каскада, и гонадотропин функционирует как полный или частичный агонист. В противном случае, когда гонадотропин с другим паттерном *N*-гликозилирования препятствует такому взаимодействию, он функционирует как антагонист или инверсионный агонист.

Механизмы этого явления подробно изучены для ФСГ-Р и ТТГ-Р [19, 46]. В отношении ЛГ/ХГ-Р установлено, что при его связывании с чХГ происходит вращение эктодомена по механизму,

сходному с таковым у ФСГР и ТТГР. По данным криогенной электронной микроскопии, для ЛГ/ХГ-Р и ТТГР при переходе из активной в неактивную конформацию показаны сходные углы вращения эктодомена – на 45° и 38° соответственно [41, 46]. Соразмерность *N*-гликанов в положении Asn<sup>56</sup>  $\alpha$ -субъединиц ЛГ, чХГ и ТТГ показывает, что они выполняют в процессе активации рецепторов сходную функцию.

*N*-гликаны влияют на образование гонадотропиновых комплексов и характер их взаимодействия с рецепторами

Продемонстрирована важная роль *N*-гликанов в формировании и стабильности гетеродимерных комплексов гонадотропинов, что определяет их аффинность к рецептору, влияет на предвзятость трансдукции, являясь одним из аллостерических механизмов гонадотропинового сигналинга, а также существенно для биодоступности и фармакокинетических характеристик гонадотропинов. Длительная инкубация клеточных культур с гибридом N(56)dg-eLHalpha:eFSHbeta, в котором  $\alpha$ -ЛГ лошади дегликозилирована по Asn<sup>56</sup>, приводит к неустойчивому димерному комплексу с  $\beta$ -ФСГ и утрате активности гибридного гонадотропина [20]. В то же время для чХГ,  $\beta$ -субъединица которого была подвержена множественному *O*-гликозилированию, *N*-гликозилирование  $\alpha$ -чХГ по Asn<sup>56</sup> слабо влияло на стабильность чХГ-гетеродимера, хотя было критично для его активности. Константы диссоциации для комплексов  $\beta$ -чХГ с нормальной и дегликозилированной по Asn<sup>56</sup>  $\alpha$ -чХГ были сходными, а данные КД-спектроскопии и ЯМР демонстрировали лишь небольшие различия для этих комплексов, в основном связанные с локальными изменениями пространственной организации кластера АКО в  $\beta$ -чХГ, потенциально контактирующих с *N*-гликаном в сайте Asn<sup>56</sup> [42]. При этом активность чХГ-гетеродимера с Asn<sup>56</sup>-дегликозилированной  $\alpha$ -чХГ была резко снижена, что подтверждает важность *N*-гликана в этой позиции для взаимодействия с рецептором, в соответствии с моделью, предложенной для ФСГР и ТТГР [19, 46].

Гипергликозилирование вносит еще более значимый вклад, чем дегликозилирование, в способность ХГ образовывать гетеродимерные комплексы и играет критическую роль в паттерне его активности [103]. В случае  $\alpha$ -субъединицы чХГ показано, что избыточное гликозилирование нарушает ее ассоциацию с  $\beta$ -чХГ [13]. Мономерные  $\alpha$ -чХГ, содержащие объемные *N*-гликаны, препятствуют комплексообразованию, секретируются плацентой, гипопизом, некоторыми опухолями [103], а также в значительных количествах идентифицированы в семенной жидкости [140]. *N*-гликаны в гипергликозилированных субъединицах чХГ,

которыми обогащена семенная жидкость, содержат большое количество остатков фукозы, что существенно меняет конформационную подвижность и гликанов, и субъединиц чХГ [97]. Гипергликозилированные  $\alpha$ -ХГ могут функционировать в как в форме мономеров, так и гомодимеров  $\alpha$ -ХГ– $\alpha$ -ХГ, что также справедливо для гипергликозилированных  $\beta$ -ХГ. Гипергликозилирование  $\beta$ -ХГ не только нарушает стабильность их комплекса с  $\alpha$ -субъединицей, но и способствует генерации свободных форм  $\beta$ -ХГ и их гомодимеров  $\beta$ -ХГ– $\beta$ -ХГ. При этом гипергликозилированный ХГ, включающий популяцию мономерных  $\beta$ -ХГ, не только с более низким сродством взаимодействует с ЛГ/ХГ-Р [73], но и приобретает способность стимулировать рецепторы трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF $\beta$ ) [31, 95]. Стимуляция этих рецепторов, наряду с опосредуемой через ЛГ/ХГ-Р стимуляцией цАМФ-путей и различных изоформ РКС, приводит к активации таких эффекторов, как ERK1/2, Akt-киназа и белки SMAD-семейства [124]. Этим обусловлен мощный митогенный и антиапоптотический потенциал гипергликозилированных форм  $\beta$ -ХГ, который реализуется независимо от сигнальных путей, включающих ЛГ/ХГ-Р, и вносит определяющий вклад в рост и дифференцировку эмбриона на ранних стадиях его развития.

Различная рецепторная специфичность слабо и высоко гликозилированных изоформ чХГ обусловлена различиями в доступности определенных участков молекулы для взаимодействия с ЛГ/ХГ-Р. Антитела В-152, которые специфически опознают *O*-гликаны, привязанные к остатку 132 в *C*-концевой части  $\beta$ -чХГ, не способны преципитировать с гетеродимерами чХГ [12], что указывает на высвобождение *C*-концевого участка в гипергликозилированных формах чХГ либо вследствие диссоциации  $\beta$ -чХГ из димерного комплекса, либо вследствие значительного изменения конформации последнего, обеспечивающего презентацию этого участка для взаимодействия с антителами. Гипергликозилирование снижает аффинность чХГ к ЛГ/ХГ-Р и ослабляет его стимулирующие эффекты в отношении эффекторных систем, что может рассматриваться как аллостерическое влияние *N*- и *O*-гликанов на рецепторное связывание и специфическую активность гормона. Так, ЕС<sub>50</sub> для активации ЛГ/ХГ-Р в случае нормально гликозилированного плацентарного чХГ составляет 3.3 пМ, в то время как для гипергликозилированных форм – от 7.1 до 14.0 пМ [73]. Тем самым, избыточное количество гликанов в чХГ выполняет функции “связанного” негативного аллостерического модулятора (NAM).

*N*-гликозилирование гонадотропинов аллостерически влияет на стабильность рецепторных комплексов

*N*-гликозилирование гонадотропинов также влияет на стабильность гетероди(олиго)мерных комплексов, образуемых их рецепторами. Несмотря на то, что рецепторы гонадотропинов могут функционировать как мономеры, образование гомо- и гетероди(олиго)мерных рецепторных комплексов во многом предопределяет их активность, причем соотношение и структурная организация таких комплексов играют важную роль в паттерне сигнальной трансдукции, особенно для гетеродимеров, образуемых ЛГ/ХГ-Р и ФСГР. В стабилизации рецепторных комплексов могут принимать участие различные типы гликан-опосредуемых взаимодействий, включая взаимодействия типа гликан-белок и гликан-гликан, которые способны стабилизировать или, напротив, дестабилизировать ассоциацию протомеров в составе комплекса или в комплексах более высокого порядка. Для ФСГР показано, что его связывание с высокими концентрациями гипогликозилированных форм ФСГ, содержащих 18 и 21 кДа  $\beta$ -ФСГ, приводит к возрастанию доли мономерных форм ФСГР, до 80% в ФСГ-связанном состоянии, причем этот эффект реализуется через 2 мин и положительно коррелирует с активацией АЦ [1]. Полностью гликозилированный ФСГ, включающий 24 кДа  $\beta$ -ФСГ, в этом отношении менее эффективен, а повышение доли мономерной формы ФСГР и активация АЦ в этом случае достигаются существенно позднее. Дегликозилированная форма ЛГ лошади со смешанной ЛГ- и ФСГ-подобной активностью, включающая  $\alpha$ -ЛГ, дегликозилированную по Asn<sup>56</sup>, и  $\beta$ -ЛГ, лишенную C-концевого сегмента 121–149, содержащего сайты для *O*-гликозилирования, напротив, повышает долю олигомерной формы рецептора до 50% и выше. К такому же результату приводит воздействие на ФСГР низких концентраций слабо гликозилированных форм ФСГ [1]. Все это свидетельствует в пользу зависимости степени олигомеризации ФСГР не только от степени *N*-гликозилирования гонадотропина, но и от его концентрации, а также указывает на взаимосвязь между *N*-гликозилированием и кинетическими показателями комплексообразования ФСГР. Все вышесказанное справедливо и для ЛГ/ХГ-Р, особенно в аспекте его гетеродимеризации с ФСГР, и это требует дальнейших исследований.

*N*-гликозилирование влияет на предвзятость гонадотропинового сигналинга

Степень и паттерн *N*-гликозилирования гонадотропинов может оказывать значимое влияние на предвзятость сигнальной трансдукции, а также предопределять судьбу лиганд-рецепторного комплекса в клетке, которая в значительной степени

зависит от характера взаимодействия лиганд-активированного ЛГ/ХГ-Р и других рецепторов гликопротеиновых гормонов с  $\beta$ -аррестинами. Наибольшее число доказательств по влиянию *N*-гликозилирования на предвзятость внутриклеточного сигналинга и избирательность клеточного ответа, а в более широком смысле на фолликулогенез и оогенез, относится к ФСГ и его сигнальным каскадам [1, 32, 69, 139]. При этом имеются, хотя и косвенные, данные в отношении гонадотропинов с ЛГ-активностью. Так в середине менструального цикла у женщин, на стадии индукции овуляции, наблюдается не только значимое повышение суммарной концентрации ЛГ-гликоформ, но и превалирование доли слабо гликозилированной формы гормона, содержащей только два *N*-гликана в  $\alpha$ -субъединице (в среднем 62–65%). Это синхронизировано с мощной активацией ЛГ-зависимых сигнальных путей в овариальных клетках, приводящих к разрыву фолликула [133]. В то же время, в раннюю фолликулярную фазу, а также в лютеальную фазу общая концентрация ЛГ в крови и доля его слабо гликозилированной формы резко снижены, что совпадает с ослаблением ЛГ-сигналинга в яичниках. К 14-му дню цикла меняется соотношение сиаловых кислот и сульфатированного GalNAc в *N*-гликанах, определяющих суммарный отрицательный заряд ЛГ, и это также вносит значительный вклад в их взаимодействие с ЛГ/ХГ-Р [133].

При изучении ЛГ лошади, наделенного как ЛГ-, так и ФСГ-подобной активностью, были получены доказательства предвзятости сигналинга его гликозилированных и дегликозилированных по Asn<sup>56</sup> форм по отношению к цАМФ-зависимому и  $\beta$ -аррестинному путям, которые опосредуются через активацию ФСГР [129]. При этом дегликозилирование приводило к значительному снижению по сравнению с нативым гормоном, стимулирующего эффекта ЛГ лошади на активность АЦ и нижележащих цАМФ-зависимых каскадов, и в то же время сохраняло и даже потенцировало активацию  $\beta$ -аррестинного пути, результатом чего были активация ERK1/2 и повышение фосфорилирования рибосомального белка рS6. Фосфорилирование рS6 при этом осуществлялось независимо от РКА по сигнальному пути, включающему mTOR-опосредуемое фосфорилирование и активацию рибосомальной киназы р70S6K [130].

Таким образом, гликозилирование оказывает значимое влияние на устойчивость гетеродимерных комплексов гонадотропинов и их рецепторов на связывающие характеристики ЛГ/ХГ-Р, на предвзятость сигнальной трансдукции, причем в случае гипергликозилированных форм  $\beta$ -ХГ меняется рецепторная специфичность гонадотропинов, которая при повышении степени гликозилирования смещается от ЛГ/ХГ-Р к рецепторам TGF $\beta$ . Не

исключено и влияние на образование лиганд-рецепторного комплекса *N*-гликозилирования внеклеточных участков самого ЛГ/ХГ-Р. При этом не всегда возможно разделить аллостерические эффекты гликозилирования от стерических эффектов, влияющих на доступность сайтов взаимодействия гонадотропина и его рецептора, от влияния гликозилирования на посттрансляционный процессинг и секреторную активность гонадотропинов, а также на процессинг и транслокацию в мембрану ЛГ/ХГ-Р. К тому же характер влияния *N*-гликанов в значительной степени определяется не только их количеством и локализацией, но и типом гликозилирования и химической структурой *N*-гликанов (соотношение сиаловой кислоты и сульфатированного GalNAc, определяющее заряд *N*-гликанов, наличие остатков фукозы, определяющих их конформационную жесткость, и др.). Предпринимались попытки разделить функции *N*- и *O*-гликозилирования в регуляции активности и контроле структурной организации гонадотропинов [45], но до сих пор это остается трудноразрешимой задачей.

Важно, что гликозилирование критически влияет на фармакокинетику гонадотропинов и их устойчивость к протеолитической деградации, что также отражается на эффективности их регуляторного влияния на внутриклеточный сигналинг. Кроме того, при осложненной беременности и в условиях репродуктивных дисфункций, а также при приеме различных препаратов, включая контрацептивы, наблюдаются существенные изменения паттерна гликозилирования, что неизбежно сказывается на фармакокинетики, биодоступности и паттерне гонадотропинов с ЛГ-активностью, в первую очередь различных форм чХГ, и опосредует различные эффекты гликоформ ЛГ и чХГ на стероидогенез, фолликулогенез, оогенез и эмбриогенез [43, 134].

#### КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ КАК АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ РЕГУЛЯЦИИ РЕЦЕПТОРА ЛГ/ХГ

Образование гомо- и гетеро(олиго)мерных комплексов GPCR, а также комплексообразование рецепторов с другими компонентами сигнальной трансдукции (*G*-белки,  $\beta$ -аррестины) играет важную роль в сигнальной трансдукции [110]. Несмотря на то, что большинство этих сведений относятся к GPCR класса C, комплексообразование играет важную роль и для GPCR класса A, к которым относится ЛГ/ХГ-Р. GPCR класса A активны преимущественно в мономерной форме, в то время как образование комплексов обусловлено переходом рецептора в неактивное состояние и(или) необходимо для модуляции связывания гормона и его эффективности [51, 92]. Гомоди(олиго)меризация

может быть вовлечена в процессы десенситизации, процессинга и транслокации рецепторов. Образование комплексов обеспечивает механизм *транс*-активации GPCR, внося существенный вклад в предвзятость сигнальной трансдукции, что в наибольшей степени проявляется при образовании гетерокомплексов. Механизмы, опосредующие эффекты протомеров на активность образуемых ими комплексов, включают в качестве основного компонента аллостерические влияния [51, 92]. Само образование комплексов находится под контролем аллостерических регуляторов различной природы, специфично взаимодействующих с сайтами в протомерах, которые формируют контакты между ними, в том числе с сайтами, взаимодействующими с мембранными липидами [137].

В случае гонадотропинов имеются различные модели, описывающие возможную роль и оценивающие вклад комплексообразования в регуляцию активности их рецепторов. Это иллюстрируется динамичным паттерном мономерных и олигомерных форм ЛГ/ХГ-Р, их взаимными переходами при связывании рецептора с лигандами и в процессе активации [41, 71, 108], а также существованием и специфичной активностью гетеродимерных комплексов, образуемых ЛГ/ХГ-Р и ФСГР [23, 27, 47, 70, 75, 82].

В базальном состоянии основная популяция ЛГ/ХГ-Р (около 60%), как и ФСГР (около 70%), представлена мономерными формами [71]. При активации гормоном доля мономерных форм повышается, хотя и в небольшой степени, и это обусловлено образованием активированного комплекса, в котором ЛГ/ХГ-Р представлен мономером [41]. В неактивном состоянии ЛГ/ХГ-Р образуют преимущественно гомоолигомерные, трех- и тетрамерные комплексы, в то время как доля гомодимеров существенно ниже. Если в мономерном состоянии лиганд-связанный ЛГ/ХГ-Р активирует нижележащие эффекторы по механизму *цис*-активации, то в составе комплексов – по механизму *транс*-активации [71].

Исследование механизмов образования ди- и олигомерных комплексов ЛГ/ХГ-Р показало ключевую роль в этом межспиральных контактов, образуемых ТМ каждого из протомеров, причем для различных комплексов набор таких взаимодействий, хотя и в небольшой степени, отличается. При изучении различных пар протомеров ЛГ/ХГ-Р была показана определяющая роль в комплексообразовании контактов между спиралью ТМ4 и ТМ1, а также межспиральных контактов ТМ3-ТМ3 и ТМ5-ТМ5 [71]. В пользу вовлечения ТМ в стабилизацию гомоди(олиго)мерных комплексов свидетельствуют результаты изучения химерных ЛГ/ХГ-Р, в том числе лишенных эктодомена или его интерфейса с ТМД [98]. Важно, что ТМД также вовлечен в ди(олиго)меризацию ЛГ/ХГ-Р, в том

числе в условиях его активации гонадотропином. Индуцированные гонадотропином конформационные изменения, возникающие в LRR-субдомене и шарнирной области эктодомена, распространяются на ТМД, что меняет паттерн и эффективность взаимодействий между ТМ протомеров, определяя стабильность рецепторного комплекса [147]. В этом случае влияние связанного с ЛГ или чХГ эктодомена одного протомера на свободный от лиганда эктодомен другого протомера осуществляется не напрямую, а через посредство индуцированных связыванием гонадотропина изменений в ТМД протомеров и взаимодействий между ними [147].

В отношении оценки аллостерического влияния комплексообразования на активность ЛГ/ХГ-Р наибольший интерес представляют исследования гетеродимерных комплексов между ЛГ/ХГ-Р и ФСГР, тем более что в их составе активность ЛГ/ХГ-Р существенно варьирует и характеризуется предвзятым сигналингом. Имеются данные, указывающие на образование гетеродимеров между ЛГ/ХГ-Р и ФСГР и на их роль в контроле стероидогенеза и фолликулогенеза [23], хотя до сих пор ведутся споры об образовании стабильных гетеродимеров ФСГР–ЛГ/ХГ-Р [27].

Связывание ФСГ с комплексом ФСГР–ЛГ/ХГ-Р по механизму *транс*-активации вызывает стимуляцию несвязанного с лигандом ЛГ/ХГ-Р, тем самым запуская ЛГ-зависимые каскады даже в отсутствие значимых количеств ЛГ или чХГ. Может реализоваться и обратная ситуация. Функционирование таких комплексов имеет критическое значение для ФСГ-зависимых стадий фолликулогенеза, включая созревание антральных фолликулов. На этих стадиях число ЛГ/ХГ-Р и концентрация ЛГ в крови очень низкие и недостаточны для эффективного синтеза андрогенов. В то же время, андрогены являются прекурсорами для эстрогенов, значительные количества которых необходимы для роста и развития антрального фолликула [144]. На ранних стадиях развития антрального фолликула тека-клетки, которые экспрессируют ЛГ/ХГ-Р и продуцируют андрогены, еще не в полной мере дифференцированы от клеток гранулезы, которые не являются ЛГ-компетентными. Предполагают, что на преантральной стадии фолликулогенеза существуют клетки, которые наделены свойствами и клеток теки, и гранулезных клеток, обогащены ФСГР и экспрессируют лишь небольшие количества ЛГ/ХГ-Р [91]. Поскольку экспрессия ЛГ/ХГ-Р и уровень ЛГ на преантральной стадии не достаточны для обеспечения синтеза такого количества андрогенов, которое необходимо для поддержания высокого уровня эстрогенов, то за ЛГ-подобные эффекты могут отвечать гетерокомплексы, функционирующие по описанному выше принципу

ФСГ-индуцированной *транс*-активации ЛГ/ХГ-Р [23, 27, 47, 70, 75, 82].

В пользу функционирования ФСГР–ЛГ/ХГ-Р гетероди(олиго)меров свидетельствуют следующие факты. У женщин с инактивирующими мутациями в гене  $\beta$ -ЛГ фолликулогенез до стадии антрального фолликула протекает нормально, и это сопровождается нормальным уровнем андрогенов и эстрогенов [3, 102]. В 1990-е гг. были получены данные, что препараты ФСГ вызывают рост и созревание фолликулов и образование желтых тел у гипofизэктомированных крыс и мышей [128], причем нокаут гена, кодирующего ЛГ/ХГ-Р, предотвращал эти эффекты ФСГ [99]. Тем самым, на ранних стадиях развития антрального фолликула ЛГ/ХГ-Р в большей степени, чем гонадотропины с ЛГ-активностью, необходим для поддержания андрогенного статуса, обеспечивающего нормальное протекание фолликулогенеза [23].

Образование гетерокомплексов ФСГР–ЛГ/ХГ-Р было подтверждено с помощью флуоресцентной корреляционной спектроскопии и других методов [47, 68, 75, 82]. Гетеродимер ФСГР–ЛГ/ХГ-Р был стабилизирован, в первую очередь, посредством взаимодействия внешних поверхностей ТМ5, ТМ6 и ТМ7, которые включают ряд аллостерических сайтов, контактирующих с липидной фазой мембраны. Эндогенными регуляторами аллостерических сайтов GPCR, контактирующих с липидной фазой мембраны, могут быть мембранные липиды, холестерин и фосфолипиды, что позволяет через изменение липидного состава мембраны влиять на активность рецепторов, а также на образование ими ди(олиго)мерных комплексов. С другой стороны, вовлечение аллостерических сайтов, расположенных на боковой поверхности ТМД, во взаимодействие между протомерами рецепторного комплекса не только меняет конформацию и подвижность ТМД и его интерфейсов с эктодоменом и ICL, но и экранирует сайты взаимодействия с мембранными липидами и другими гидрофобными молекулами, способными специфично связываться с такими сайтами. Это может лежать в основе взаимосвязи между физико-химическими и структурными особенностями липидного матрикса мембраны и функциональным состоянием GPCR.

Образование гетерокомплексов ФСГР–ЛГ/ХГ-Р влияет на предвзятость сигнальной трансдукции, ослабляя цАМФ-пути и усиливая фосфолипидные пути [47, 70]. Стимуляция гетеродимерных комплексов ФСГР–ЛГ/ХГ-Р с помощью ЛГ или чХГ и с помощью ФСГ приводит к значительному ослаблению стимулирующего АЦ сигнала [47] и при этом усиливает сигналы, осуществляемые через  $G_{q/11}$ -белки, опосредующие активацию PLC $\beta$  [70]. Последнее обусловлено тем, что при ассоциации лиганд-активированного ЛГ/ХГ-Р с ФСГР происходит реорганизация комплекса ЛГ–ЛГ/

ХГ-Р— $G_{q/11}$ -белок, обеспечивающая более эффективное проведение сигнала по этому пути [70]. Наряду с  $G_{q/11}$ -субъединицей, при гетеродимеризации ФСГР—ЛГ/ХГ-Р в ЛГ-индуцированную стимуляцию кальциевого сигналинга вовлечен и  $G\beta\gamma$ -димер, причем его действие реализуется путем открытия кальциевых каналов плазматической мембраны, хотя не исключены и другие, независимые от  $G\beta\gamma$ -димера, механизмы активации. В пользу значительного вклада внеклеточного  $Ca^{2+}$  в эффекты ЛГ в условиях ассоциации ЛГ/ХГ-Р с ФСГР свидетельствуют ослабление эффекта гонадотропина на кальциевый сигналинг при снижении концентрации  $Ca^{2+}$  во внеклеточном пространстве, а также ингибирующее влияние на этот эффект ингибиторов кальциевых каналов [70]. Тем самым, свободный от лиганда ФСГР является РАМ для ЛГ-индуцированной стимуляции  $G_{q/11}$ -белка и одновременно с этим НАМ для активации АЦ системы, демонстрируя свойства предвзятого аллостерического модулятора.

#### НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРЫ ЛГ/ХГ-Р

Помимо ортостерического сайта, вовлеченного в высокоаффинное связывание гонадотропинов, в ЛГ/ХГ-Р имеются аллостерические сайты, локализованные в различных локусах молекулы, в том числе в верхней половине ТМД, которые при связывании ЛГ и чХГ остаются свободными [75, 110]. Внутри трансмембранного тоннеля ЛГ/ХГ-Р локализованы два аллостерических сайта — основной и модулирующий его активность [2, 60]. Первый сформирован внутренними поверхностями ТМ4, ТМ5, ТМ6 и ТМ7 [58, 79], в то время как второй образован ТМ1, ТМ2, ТМ3 и ТМ7 [2]. Оба сайта физически перекрываются между собой. Следствием этого является обеспечение широкого фармакологического диапазона аллостерической регуляции ЛГ/ХГ-Р. В процессе разработки низкомолекулярных лигандов трансмембранных аллостерических сайтов ЛГ/ХГ-Р выявлены наделенные как собственной активностью полные и инверсионные агонисты, так и аллостерические модуляторы, которые по фармакологической активности могут быть отнесены к РАМ и НАМ [75, 110]. Наряду с этим выявлены аллостерические регуляторы с активностью аго-РАМ [110].

Первые низкомолекулярные лиганды ЛГ/ХГ-Р были разработаны голландскими учеными в 2002 г., которые синтезировали производные тиено[2,3-d]пиримидина (ТП) с активностью агонистов, в том числе наиболее активное соединение Org43553 [127]. В дальнейшем Org43553 стал прототипом для большого числа ТП с активностью аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р [8, 10, 35, 36, 88, 110, 112, 121, 122]. Нами была разработана

серия ТП с активностью агонистов/аго-РАМ ЛГ/ХГ-Р, в том числе наиболее активные *in vivo* соединения 5-амино-*N*-*трет*-бутил-2-(метилсульфанил)-4-(3-(никотинамидо)фенил)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (ТР03) и 5-амино-*N*-*трет*-бутил-4-(3-(1-метил-1*H*-пиразол-4-карбоксамидо)фенил)-2-(метилсульфанил)тиено[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (ТР4/2) [8, 10, 35, 36, 38, 112].

При изучении Org43553 было показано, что оно специфично связывается с ЛГ/ХГ-Р ( $K_d$ , 2.4 нМ), причем в его присутствии связывание гонадотропинов с ортостерическим сайтом ЛГ/ХГ-Р и их стимулирующее влияние на АЦ сохраняется, что указывает на несовпадение локализации аллостерического и ортостерического сайтов [60]. Результатом связывания Org43553 с ЛГ/ХГ-Р была стимуляция АЦ и фактора CREB, хотя эффективность Org43553 была ниже таковой ЛГ [125]. Разработанные нами соединения ТР01, ТР03, ТР4/2, ТР21, ТР23 и ТР37 также стимулировали АЦ во фракциях плазматических мембран, выделенных из семенников и яичников крыс [7, 8, 10, 35, 36, 39, 112]. ТР03 и ТР4/2 при действии на первичные культуры клеток Лейдига грызунов повышали в них внутриклеточный уровень цАМФ и усиливали стероидогенез, что приводило к дозозависимому усилению продукции тестостерона [9, 112].

Org43553 и разработанные нами ТП, стимулируя активность АЦ, слабо влияли на  $G_{q/11}$ -белки и фосфолипазные пути [39, 112, 125]. Org43553 даже в сравнительно высоких концентрациях стимулировал PLC $\beta$  лишь на 33–37 %, что составляет менее 5% от соответствующего эффекта ЛГ [125]. Имеются основания полагать, что ТП также слабо влияют на активность  $\beta$ -аррестинов, о чем свидетельствуют отсутствие их эффекта на каскад MAPK и низкая интенсивность эндоцитоза ЛГ/ХГ-Р [125]. Даже при курсовом введении крысам ТП слабо влияют на экспрессию гена, кодирующего ЛГ/ХГ-Р, и на плотность ЛГ/ХГ-Р в клетках-мишенях, что предотвращает резистентность к действию эндогенных гонадотропинов с ЛГ-активностью [8–10].

Исследование комплекса Org43553 с трансмембранным аллостерическим сайтом ЛГ/ХГ-Р с помощью криоэлектронной микроскопии показало, что этот агонист занимает верхнюю часть образованного этим сайтом кармана. Морфолиновое кольцо Org43553 направлено наружу, к границе между шарнирной областью и внеклеточной частью ТМД, в то время как *трет*-бутиламинная группа направлена вглубь трансмембранного тоннеля. Сам аллостерический сайт включает АКО, принадлежащие спиральям ТМ3, ТМ5, ТМ6 и ТМ7, петлям ECL2 и ECL3 и граничащего с ТМ1 сегмента шарнирной области. Показана важность гидрофобных взаимодействий между Org43553 и аллостерическим сайтом ЛГ/ХГ-Р [41]. Используя

методы гомологического моделирования и молекулярной динамики, нами были оценены параметры связывания TR4/2 и других разработанных ТП с ЛГ/ХГ-Р и показано, что гидрофобные взаимодействия играют определяющую роль в стабилизации комплекса низкомолекулярного агониста с трансмембранным аллостерическим сайтом, в то время как кулоновские взаимодействия и водородные связи менее значимы [8]. Как и в случае Org43553, 1-метил-1Н-пиразол-4-ильная группа TR4/2 была направлена к внеклеточному входу в трансмембранный тоннель, а *трет*-бутиламинная группа – к центральной его части. Сниженная способность TR4/2 взаимодействовать с трансмембранным аллостерическим сайтом ТТГР хорошо согласуется с данными об отсутствии значимого влияния этого соединения и его аналогов на ТТГ-стимулированную активность АЦ в мембранах щитовидной железы и в условиях *in vivo* на уровне тиреоидных гормонов и экспрессию генов, ответственных за их синтез [6, 8, 39].

Крайне важно, что Org43553 и разработанные нами ТП активны не только *in vitro*, но и *in vivo*, причем они эффективны как при парентеральных, так и при пероральном способах введения [8, 10, 35, 36, 38, 39, 52, 121-123]. Сохранение активности при пероральном введении свидетельствует о хорошем всасывании ТП в желудочно-кишечном тракте и их высокой биодоступности при таком способе доставки. Одним из подходов для предотвращения осложнений терапии с помощью ЛГ или чХГ является снижение их дозы, но это приводит к ослаблению эффективности препаратов и недостижению требуемого эффекта. Нами и другими авторами продемонстрирована частичная аддитивность эффектов низких доз гонадотропинов и ТП на активность АЦ и продукцию тестостерона в условиях *in vitro* [39, 125]. Это позволило высказать гипотезу об их аддитивности и потенцировании в условиях *in vivo*. В подтверждение этого нами показано, что предобработка самцов крыс с помощью TR03 в дозах от 7.5 до 25 мг/кг почти в 2 раза повышала стероидогенный эффект чХГ и снижала его эффективную дозу, а также меняла чХГ-стимулированный паттерн экспрессии стероидогенных генов [111].

Наряду со взаимным влиянием ортостерического и аллостерического сайтов важную роль в эффекте потенцирования могут играть присущие аллостерическим агонистам ЛГ/ХГ-Р свойства низкомолекулярных шаперонов, что хорошо проявляется для мутантных форм рецептора со сниженной способностью к транслокации в плазматическую мембрану. Так, ЛГ/ХГ-Р с мутациями Ala<sup>593</sup>Pro и Ser<sup>616</sup>Tyr в ТМД не способны к транслокации, остаются в эндоплазматическом ретикулуме, пребывая в неактивном состоянии, несмотря на способность связываться с ЛГ и чХГ. Org42599

с активностью ЛГ/ХГ-Р-агониста, трифторацетат Org 43553, восстанавливало активность мутантных ЛГ/ХГ-Р с заменами Ala<sup>593</sup>Pro и Ser<sup>616</sup>Tyr [93]. Инкубация клеток, в которых были экспрессированы мутантные ЛГ/ХГ-Р, с Org42599 повышала экспрессию мутантного рецептора, долю ЛГ/ХГ-Р с правильной укладкой полипептидной цепи и подходящей топологией в мембране, увеличивала плотность ЛГ/ХГ-Р на поверхности клетки. Этот эффект был связан со способностью Org42599 проникать через плазматическую мембрану клеток Лейдига и специфично связываться с аллостерическим сайтом расположенного в ретикулярной мембране ЛГ/ХГ-Р, что обеспечивало правильную укладку рецептора и его транслокацию в мембрану [93]. Шапероноподобным эффектом ТП может быть опосредован не только их потенцирующий эффект на эффекты гонадотропинов, но и сохранение высокой эффективности ТП, как это показано нами для TR03, при стимуляции стероидогенеза у крыс с различными моделями сахарного диабета [8, 10].

Наряду с полными агонистами и(или) РАМ, были разработаны аллостерические лиганды для ЛГ/ХГ-Р с активностью NAMs, нейтральных антагонистов и инверсионных агонистов, среди которых наибольший интерес представляют производные терфенила [59], тетрагидро-1,6-нафтиридина [136], пиримидо[4,5,6-*de*][1,6]нафтиридина и пиридо[3,4-*d*]пиримидина [37], бензамида [5], а также дихлородифенилтрихлорэтана [90]. Эти препараты могут быть применены для лечения гормон-зависимых опухолей и для контрацепции, а также для коррекции гипергонадотропного гипогонадизма.

Помимо лигандов трансмембранного аллостерического сайта, перспективными являются лиганды цитоплазматических аллостерических сайтов, включающих в качестве молекулярных детерминант участки, вовлеченные во взаимодействие ЛГ/ХГ-Р с G-белками и β-аррестинами. В качестве таких лигандов могут использоваться синтетические пептиды, соответствующие участкам ICL2, ICL3 и проксимальному сегменту C-хвостового домена ЛГ/ХГ-Р. Основываясь на том, что C-концевая половина ICL3 участвует во взаимодействии с G<sub>s</sub>-белком, что косвенно указывает на ее перекрывание и(или) взаимодействие с внутриклеточным аллостерическим G<sub>s</sub>-компетентным сайтом, нами был синтезирован и исследован пальмитилированный с C-конца пептид NKDTKIAKK-Nle-A(562–572)-K(Pal)A, который соответствовал участку 562–572 ЛГ/ХГ-Р [40, 113, 114]. В условиях *in vitro* в микромолярных концентрациях он повышал активность АЦ и ГТФ-связывание в тестикулярных мембранах, а при интратестикулярном введении самцам крыс стимулировал у них тестикулярный стероидогенез и повышал продукцию тестостерона [40, 113]. При этом он в значительной

степени ингибировал стимулирующие эффекты чХГ на активность АЦ системы *in vitro* и на продукцию тестостерона *in vivo*, что указывает на его фармакологический профиль, как РАМ-антагониста [40, 113]. Следует, однако, отметить, что при подкожном и внутривенном введении пептид 562–572 ЛГ/ХГ-Р имел низкую стабильность.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе эволюции позвоночных, наряду с усложнением механизмов регуляции репродуктивных функций, происходило повышение сложности и гибкости управления этими механизмами, в том числе на уровне сигнальной системы, регулируемой гонадотропинами с ЛГ-активностью. Для повышения информационной емкости ЛГ-системы, расширения спектра сигнальных каскадов и эффекторных белков, активируемых гонадотропинами, а также для обеспечения таргетности ЛГ-сигналинга и его тонкой настройки в конкретных физиологических условиях реализовывались сразу несколько стратегий. Одни из них состояли в изменении структуры гонадотропинов с ЛГ-активностью, без существенного изменения структуры связывающего сайта. С этой целью на уровне генома генерировались различные формы гонадотропинов, которые у человека и некоторых приматов представлены двумя молекулами – ЛГ и ХГ, а также варьировался их статус гликозилирования. Тем самым, не только достигались требуемые в определенных физиологических условиях эффективность и предвзятость гонадотропин-индуцированной сигнальной трансдукции, но и обеспечивались дополнительные уровни ее регуляции. Другие стратегии состояли в “гонадотропин-независимом” влиянии на конформационные характеристики рецептора и его способность взаимодействовать с гонадотропином, и эти стратегии основаны исключительно на аллостерических механизмах. И наиболее важным здесь было комплексообразование ЛГ/ХГ-Р – как его гомоди(олиго)меризация, так и образование гетерокомплексов с ФСГР. Образование рецепторных комплексов может приводить к ослаблению или даже предотвращению гонадотропинового сигнала (гомодимеризация ЛГ/ХГ-Р) или влиять на его предвзятость. В случае ЛГ/ХГ-Р–ФСГР-гетерокомплекса, вследствие *транс*-активации, реализуется запуск ЛГ-зависимых внутриклеточных каскадов с помощью ФСГ. Совмещение аллостерических эффектов образования ЛГ/ХГ-Р-комплексов на ЛГ-сигналинг с такими различными комбинациями гонадотропиновых субъединиц и их гликоформ приводит, с одной стороны, к еще большему разнообразию потенциальных эффектов гонадотропинов в клетке-мишени, и, с другой стороны, позволяет тонко регулировать избирательность и интенсивность гормонального

сигнала, что имеет решающее значение для разработки препаратов с ЛГ-активностью с целью их применения в репродуктивной медицине. Присутствие в молекуле ЛГ/ХГ-Р аллостерических сайтов, локализованных в ТМД и в ICL, создает хорошие предпосылки для создания низкомолекулярных аллостерических регуляторов ЛГ/ХГ-Р с широким спектром фармакологической активности, что в настоящее время реализуется в ходе разработки ТП, лигандов трансмембранного аллостерического сайта ЛГ/ХГ-Р.

### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-75-20122 и его продолжение № 23-75-31003).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Agwuegbo U.T., Colley E., Albert A.P. et al.* Differential FSH Glycosylation Modulates FSHR Oligomerization and Subsequent cAMP Signaling // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2021. V. 12. 765727. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.765727>
2. *Arey B.J.* Allosteric modulators of glycoprotein hormone receptors: Discovery and therapeutic potential // *Endocrine*. 2008. V. 34. № 1–3. P. 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12020-008-9098-2>
3. *Arnhold I.J., Lofrano-Porto A., Latronico A.C.* Inactivating mutations of luteinizing hormone beta-subunit or luteinizing hormone receptor cause oligo-amenorrhea and infertility in women // *Horm. Res.* 2009. V. 71. № 2. P. 75–82. <https://doi.org/10.1159/000183895>
4. *Ayoub M.A., Landomiel F., Gallyay N. et al.* Assessing Gonadotropin Receptor Function by Resonance Energy Transfer-Based Assays // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. 2015. V. 6. 130. <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00130>
5. *Ayoub M.A., Yvinec R., Jégot G. et al.* Profiling of FSHR negative allosteric modulators on LH/CGR reveals biased antagonism with implications in steroidogenesis // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016. V. 436. P. 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.07.013>
6. *Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Dar'in D.V., Shpakov A.O.* Thienopyrimidine derivatives specifically activate testicular steroidogenesis but do not affect thyroid functions // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2019. V. 55. № 1. P. 30–39. <https://doi.org/10.1134/S0022093019010046>

7. *Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Dar'in D.V., Stepochkina A.M., Shpakov A.O.* A low molecular weight agonist of the luteinizing hormone receptor stimulates adenylyl cyclase in the testicular membranes and steroidogenesis in the testes of rats with type 1 diabetes // *Biochemistry (Moscow). Suppl. Series A: Membrane and Cell Biology.* 2019. V. 13. № 4. P. 301–309.  
<https://doi.org/10.1134/S1990747819040032>
8. *Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Gureev M.A. et al.* Comparative Study of the Steroidogenic Effects of Human Chorionic Gonadotropin and Thieno[2,3-D]pyrimidine-Based Allosteric Agonist of Luteinizing Hormone Receptor in Young Adult, Aging and Diabetic Male Rats // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 20. 7493.  
<https://doi.org/10.3390/ijms21207493>
9. *Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Romanova I.V. et al.* Effect of low-molecular-weight allosteric agonists of the luteinizing hormone receptor on its expression and distribution in rat testes // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2021. V. 57. № 2. P. 208–220.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093021020034>
10. *Bakhtyukov A.A., Derkach K.V., Sorokoumov V.N. et al.* The Effects of Separate and Combined Treatment of Male Rats with Type 2 Diabetes with Metformin and Orthosteric and Allosteric Agonists of Luteinizing Hormone Receptor on Steroidogenesis and Spermatogenesis // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 23. № 1. 198.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23010198>
11. *Berndt S., Blacher S., Munaut C. et al.* Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin stimulates angiogenesis through TGF- $\beta$  receptor activation // *FASEB J.* 2013. V. 27. № 4. P. 1309–1321.  
<https://doi.org/10.1096/fj.12-213686>
12. *Birken S.* Specific measurement of o-linked core 2 sugar-containing isoforms of hyperglycosylated human chorionic gonadotropin by antibody b152 // *Tumour. Biol.* 2005. V. 26. № 3. P. 131–141.  
<https://doi.org/10.1159/000086484>
13. *Blithe D.L.* N-linked oligosaccharides on free alpha interfere with its ability to combine with human chorionic gonadotropin-beta subunit // *J. Biol. Chem.* 1990. V. 265. № 35. P. 21951–21956.
14. *Bousfield G.R., Butnev V.Y., Butnev V.Y.* Identification of twelve O-glycosylation sites in equine chorionic gonadotropin beta and equine luteinizing hormone ss by solid-phase Edman degradation // *Biol. Reprod.* 2001. V. 64. № 1. P. 136–147.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod64.1.136>
15. *Bousfield G.R., Dias J.A.* Synthesis and secretion of gonadotropins including structure-function correlates // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2011. V. 12. № 4. P. 289–302.  
<https://doi.org/10.1007/s11154-011-9191-3>
16. *Bradbury F.A., Menon K.M.* Evidence that constitutively active luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptors are rapidly internalized // *Biochemistry.* 1999. V. 38. № 27. P. 8703–8712.  
<https://doi.org/10.1021/bi990169t>
17. *Brüser A., Schulz A., Rothmund S. et al.* The Activation Mechanism of Glycoprotein Hormone Receptors with Implications in the Cause and Therapy of Endocrine Diseases // *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291. № 2. P. 508–520.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M115.701102>
18. *Butnev V.Y., Butnev V.Y., May J.V. et al.* Production, purification, and characterization of recombinant hFSH glycoforms for functional studies // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015. V. 405. P. 42–51.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.026>
19. *Butnev V.Y., May J.V., Brown A.R. et al.* Human FSH Glycoform  $\alpha$ -Subunit Asparagine<sup>52</sup> Glycans: Major Glycan Structural Consistency, Minor Glycan Variation in Abundance // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022. V. 13. 767661.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.767661>
20. *Butnev V.Y., Singh V., Nguyen V.T., Bousfield G.R.* Truncated equine LH beta and asparagine(56)-deglycosylated equine LH alpha combine to produce a potent FSH antagonist // *J. Endocrinol.* 2002. V. 172. № 3. P. 545–555.  
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1720545>
21. *Caron P., Broussaud S., Galano-Frutos J.J., Sancho J., Savagner F.* New variant (Val597Ile) in transmembrane region of the TSH receptor with human chorionic gonadotropin hypersensitivity in familial gestational hyperthyroidism // *Clin Endocrinol (Oxf).* 2020. V. 93. № 3. P. 339–345.  
<https://doi.org/10.1111/cen.14215>
22. *Casarini L., Lispi M., Longobardi S. et al.* LH and hCG action on the same receptor results in quantitatively and qualitatively different intracellular signaling // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 10. e46682.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046682>

23. Casarini L., Paradiso E., Lazzaretti C. et al. Regulation of antral follicular growth by an interplay between gonadotropins and their receptors // *J. Assist Reprod Genet.* 2022. V. 39. № 4. P. 893–904.  
<https://doi.org/10.1007/s10815-022-02456-6>
24. Casarini L., Riccetti L., De Pascali F. et al. Estrogen Modulates Specific Life and Death Signals Induced by LH and hCG in Human Primary Granulosa Cells In Vitro // *Int J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 5. 926.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18050926>
25. Casarini L., Riccetti L., De Pascali F. et al. Follicle-stimulating hormone potentiates the steroidogenic activity of chorionic gonadotropin and the anti-apoptotic activity of luteinizing hormone in human granulosa-lutein cells in vitro // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2016. V. 422. P. 103–114.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.12.008>
26. Casarini L., Santi D., Brigante G., Simoni M. Two Hormones for One Receptor: Evolution, Biochemistry, Actions, and Pathophysiology of LH and hCG // *Endocr. Rev.* 2018. V. 39. № 5. P. 549–592.  
<https://doi.org/10.1210/er.2018-00065>
27. Casarini L., Santi D., Simoni M., Potì F. ‘Spare’ Luteinizing Hormone Receptors: Facts and Fiction // *Trends Endocrinol Metab.* 2018. V. 29. № 4. P. 208–217.  
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.01.007>
28. Casarini L., Simoni M. Recent advances in understanding gonadotropin signaling // *Fac Rev.* 2021. V. 10. 41.  
<https://doi.org/10.12703/r/10-41>
29. Chaturvedi M., Maharana J., Shukla A.K. Terminating G-Protein Coupling: Structural Snapshots of GPCR-β-Arrestin Complexes // *Cell.* 2020. V. 180. № 6. P. 1041–1043.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.047>
30. Chen C.Y., Chen C.R., Chen C.N. et al. Amphetamine-Decreased Progesterone and Estradiol Release in Rat Granulosa Cells: The Regulatory Role of cAMP- and Ca<sup>2+</sup>-Mediated Signaling Pathways // *Biomedicines.* 2021. V. 9. № 5. 493.  
<https://doi.org/10.3390/biomedicines9050493>
31. Cole L.A. Proportion hyperglycosylated hCG: a new test for discriminating gestational trophoblastic diseases // *Int J. Gynecol Cancer.* 2014. V. 24. № 9. P. 1709–1714.  
<https://doi.org/10.1097/IGC.0000000000000280>
32. Converse A., Liu Z., Patel J.C. et al. Oocyte quality is enhanced by hypoglycosylated FSH through increased cell-to-cell interaction during mouse follicle development // *Development.* 2023. V. 150. № 22. dev202170.  
<https://doi.org/10.1242/dev.202170>
33. Costagliola S., Panneels V., Bonomi M. et al. Tyrosine sulfation is required for agonist recognition by glycoprotein hormone receptors // *EMBO J.* 2002. V. 21. № 4. P. 504–513.  
<https://doi.org/10.1093/emboj/21.4.504>
34. Davis J.S., Kumar T.R., May J.V., Bousfield G.R. Naturally Occurring Follicle-Stimulating Hormone Glycosylation Variants // *J. Glycomics Lipidomics.* 2014. V. 4. № 1. e117.  
<https://doi.org/10.4172/2153-0637.1000e117>
35. Derkach K.V., Dar'in D.V., Bakhtyukov A.A., Lobanov P.S., Shpakov A.O. In vitro and in vivo studies of functional activity of new low molecular weight agonists of the luteinizing hormone receptor // *Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology.* 2016. V. 10. № 4. P. 294–300.  
<https://doi.org/10.1134/S1990747816030132>
36. Derkach K.V., Dar'in D.V., Lobanov P.S., Shpakov A.O. Intratesticular, intraperitoneal, and oral administration of thienopyrimidine derivatives increases the testosterone level in male rats // *Dokl. Biol. Sci.* 2014. V. 459. № 1. P. 326–329.  
<https://doi.org/10.1134/S0012496614060040>
37. Derkach K.V., Dar'in D.V., Shpakov A.O. Low-Molecular-Weight Ligands of Luteinizing Hormone with the Activity of Antagonists // *Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology.* 2020. V. 14. № 3. P. 223–231.  
<https://doi.org/10.1134/S1990747820030034>
38. Derkach K.V., Lebedev I.A., Morina I.Y. et al. Comparison of Steroidogenic and Ovulation-Inducing Effects of Orthosteric and Allosteric Agonists of Luteinizing Hormone/Chorionic Gonadotropin Receptor in Immature Female Rats // *Int J. Mol Sci.* 2023. V. 24. № 23. 16618.  
<https://doi.org/10.3390/ijms242316618>
39. Derkach K.V., Legkodukh A.S., Dar'in D.V., Shpakov A.O. The stimulating effect of thienopyrimidines structurally similar to Org 43553 on adenylate cyclase activity in the testes and on testosterone production in male rats // *Cell Tissue Biol.* 2017. V. 11. № 1. P. 73–80.  
<https://doi.org/10.1134/S1990519X17010035>
40. Derkach K.V., Shpakova E.A., Shpakov A.O. Palmitoylated peptide 562-572 of luteinizing

- hormone receptor increases testosterone level in male rats // *Bull Exp. Biol. Med.* 2014. V. 158. № 2. P. 209–212.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-014-2724-5>
41. *Duan J., Xu P., Cheng X. et al.* Structures of full-length glycoprotein hormone receptor signalling complexes // *Nature*. 2021. V. 598. № 7882. P. 688–692.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03924-2>
42. *Erbel P.J., Haseley S.R., Kamerling J.P., Vliegthart J.F.* Studies on the relevance of the glycan at Asn-52 of the alpha-subunit of human chorionic gonadotropin in the alphabeta dimer // *Biochem J.* 2002. V. 364. Pt 2. P. 485–495.  
<https://doi.org/10.1042/BJ20011482>
43. *Eriksson K., Wide L.* Gonadotropin Glycoforms Circulating in Women Using Progestins of the Levonorgestrel Family for Contraception // *J. Endocr Soc.* 2020. V. 4. № 11.  
<https://doi.org/10.1210/jendso/bvaa128>
44. *Fanis P., Neocleous V., Papapetrou I., Phylactou L.A., Skordis N.* Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor (GnRHR) and Hypogonadotropic Hypogonadism // *Int J. Mol Sci.* 2023. V. 24. № 21.  
<https://doi.org/10.3390/ijms242115965>
45. *Fares F.* The role of O-linked and N-linked oligosaccharides on the structure-function of glycoprotein hormones: Development of agonists and antagonists // *Biochim Biophys Acta.* 2006. V. 1760. № 4. P. 560–567.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.12.022>
46. *Faust B., Billesbølle C.B., Suomivuori C.M. et al.* Autoantibody mimicry of hormone action at the thyrotropin receptor // *Nature*. 2022. V. 609. № 7928. P. 846–853.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05159-1>
47. *Feng X., Zhang M., Guan R., Segaloff D.L.* Heterodimerization between the lutropin and follitropin receptors is associated with an attenuation of hormone-dependent signaling // *Endocrinology*. 2013. V. 154. № 10. P. 3925–3930.  
<https://doi.org/10.1210/en.2013-1407>
48. *Fernández-Tejada A., Vadola P.A., Danishefsky S.J.* Chemical synthesis of the  $\beta$ -subunit of human luteinizing (hLH) and chorionic gonadotropin (hCG) glycoprotein hormones // *J Am Chem Soc.* 2014. V. 136. № 23. P. 8450–8458.  
<https://doi.org/10.1021/ja503545r>
49. *Fournier T.* Human chorionic gonadotropin: Different glycoforms and biological activity depending on its source of production // *Ann Endocrinol (Paris)*. 2016. V. 77. № 2. P. 75–81.  
<https://doi.org/10.1016/j.ando.2016.04.012>
50. *Fournier T., Guibourdenche J., Evain-Brion D.* Review: hCGs: different sources of production, different glycoforms and functions // *Placenta*. 2015. V. 36. Suppl 1. P. 60–65.  
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.02.002>
51. *Fuxe K., Borroto-Escuela D.O.* Heteroreceptor Complexes and their Allosteric Receptor-Receptor Interactions as a Novel Biological Principle for Integration of Communication in the CNS: Targets for Drug Development // *Neuropsychopharmacology*. 2016. V. 41. № 1. P. 380–382.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2015.244>
52. *Gerrits M., Mannaerts B., Kramer H., Addo S., Hanssen R.* First evidence of ovulation induced by oral LH agonists in healthy female volunteers of reproductive age // *J. Clin Endocrinol Metab.* 2013. V. 98. № 4. P. 1558–1566.  
<https://doi.org/10.1210/jc.2012-3404>
53. *Grzesik P., Kreuchwig A., Rutz C. et al.* Differences in Signal Activation by LH and hCG are Mediated by the LH/CG Receptor's Extracellular Hinge Region // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015. V. 6. 140.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00140>
54. *Gudermann T., Birnbaumer M., Birnbaumer L.* Evidence for dual coupling of the murine luteinizing hormone receptor to adenylyl cyclase and phosphoinositide breakdown and  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization. Studies with the cloned murine luteinizing hormone receptor expressed in L cells // *J. Biol. Chem.* 1992. V. 267. № 7. P. 4479–4488.
55. *Gudermann T., Nichols C., Levy F.O., Birnbaumer M., Birnbaumer L.*  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization by the LH receptor expressed in *Xenopus* oocytes independent of 3',5'-cyclic adenosine monophosphate formation: evidence for parallel activation of two signaling pathways // *Mol. Endocrinol.* 1992. V. 6. № 2. P. 272–278.  
<https://doi.org/10.1210/mend.6.2.1314958>
56. *Gupta C., Chapekar T., Chhabra Y. et al.* Differential response to sustained stimulation by hCG & LH on goat ovarian granulosa cells // *Indian J. Med. Res.* 2012. V. 135. № 3. P. 331–340.
57. *He X., Duan J., Ji Y. et al.* Hinge region mediates signal transmission of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin receptor // *Comput*

- Struct Biotechnol J. 2022. V. 20. P. 6503–6511. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.11.039>
58. *Heitman L.H., Kleinau G., Brussee J., Krause G., Ijzerman A.P.* Determination of different putative allosteric binding pockets at the lutropin receptor by using diverse drug-like low molecular weight ligands // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2012. V. 351. № 2. P. 326–336. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.01.010>
  59. *Heitman L.H., Narlawar R., de Vries H. et al.* Substituted terphenyl compounds as the first class of low molecular weight allosteric inhibitors of the luteinizing hormone receptor // *J. Med. Chem.* 2009. V. 52. № 7. P. 2036–2042. <https://doi.org/10.1021/jm801561h>
  60. *Heitman L.H., Oosterom J., Bonger K.M. et al.* [<sup>3</sup>H]Org 43553, the first low-molecular-weight agonistic and allosteric radioligand for the human luteinizing hormone receptor // *Molecular pharmacology.* 2008. V. 73. P. 518–524. <https://doi.org/10.1124/mol.107.039875>
  61. *Herrlich A., Kühn B., Grosse R. et al.* Involvement of Gs and Gi proteins in dual coupling of the luteinizing hormone receptor to adenylyl cyclase and phospholipase C // *J. Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 28. P. 16764–16772. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.28.16764>
  62. *Horvat R.D., Barisas B.G., Roess D.A.* Luteinizing hormone receptors are self-associated in slowly diffusing complexes during receptor desensitization // *Mol. Endocrinol.* 2001. V. 15. № 4. P. 534–542. <https://doi.org/10.1210/mend.15.4.0622>
  63. *Hoy J.J., Salinas Parra N., Park J. et al.* Protein kinase A inhibitor proteins (PKIs) divert GPCR-Gas-cAMP signaling toward EPAC and ERK activation and are involved in tumor growth // *FASEB J.* 2020. V. 34. № 10. P. 13900–13917. <https://doi.org/10.1096/fj.202001515R>
  64. *Hunzicker-Dunn M., Barisas G., Song J., Roess D.A.* Membrane organization of luteinizing hormone receptors differs between actively signaling and desensitized receptors // *J. Biol. Chem.* 2003, V. 278. № 44. P. 42744–42749. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306133200>
  65. *Jardón-Valadez E., Ulloa-Aguirre A.* Tracking conformational transitions of the gonadotropin hormone receptors in a bilayer of (SDPC) polyunsaturated lipids from all-atom molecular dynamics simulations // *PLoS Comput Biol.* 2024. V. 20. № 1. e1011415. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1011415>
  66. *Jiang X., Fischer D., Chen X. et al.* Evidence for Follicle-stimulating Hormone Receptor as a Functional Trimer // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 20. P. 14273–14282. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.549592>
  67. *Jiang X., Liu H., Chen X. et al.* Structure of follicle-stimulating hormone in complex with the entire ectodomain of its receptor // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012. V. 109. № 31. P. 12491–12496. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206643109>
  68. *Johnson G.P., Jonas K.C.* Mechanistic insight into how gonadotropin hormone receptor complexes direct signaling // *Biol. Reprod.* 2020. V. 102. № 4. P. 773–783. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz228>
  69. *Johnson G.P., Onabanjo C.G.A., Hardy K. et al.* Follicle-Stimulating Hormone Glycosylation Variants Distinctly Modulate Pre-antral Follicle Growth and Survival // *Endocrinology.* 2022. V. 163. № 12. bqac161. <https://doi.org/10.1210/endo/bqac161>
  70. *Jonas K.C., Chen S., Virta M. et al.* Temporal reprogramming of calcium signalling via cross-talk of gonadotrophin receptors that associate as functionally asymmetric heteromers // *Sci Rep.* 2018. V. 8. № 1. 2239. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20722-5>
  71. *Jonas K.C., Fanelli F., Huhtaniemi I.T., Hanyaloglu A.C.* Single molecule analysis of functionally asymmetric G protein-coupled receptor (GPCR) oligomers reveals diverse spatial and structural assemblies // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 7. P. 3875–3892. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.622498>
  72. *Kara E., Dupuy L., Bouillon C., Casteret S., Maurel M.C.* Modulation of Gonadotropins Activity by Antibodies // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019. V. 10. 15. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00015>
  73. *Koistinen H., Koel M., Peters M. et al.* Hyperglycosylated hCG activates LH/hCG-receptor with lower activity than hCG // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2019. V. 479. P. 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2018.09.006>
  74. *Laphorn A.J., Harris D.C., Littlejohn A. et al.* Crystal structure of human chorionic gonadotropin // *Nature.* 1994. V. 369. № 6480. P. 455–461. <https://doi.org/10.1038/369455a0>
  75. *Lazzaretti C., Simoni M., Casarini L., Paradiso E.* Allosteric modulation of gonadotropin receptors // *Front Endocrinol (Lausanne).*

2023. V. 14. 1179079.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1179079>
76. *Lee S.Y., Byambaragcha M., Choi S.H. et al.* Roles of N-linked and O-linked glycosylation sites in the activity of equine chorionic gonadotropin in cells expressing rat luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor and follicle-stimulating hormone receptor // *BMC Biotechnol.* 2021. V. 21. № 1. 52.  
<https://doi.org/10.1186/s12896-021-00712-8>
77. *Lei Y., Hagen G.M., Smith S.M. et al.* Constitutively-active human LH receptors are self-associated and located in rafts // *Mol. Cell Endocrinol.* 2007. V. 260–262. P. 65–72.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2005.11.046>
78. *Maharana J., Banerjee R., Yadav M.K., Sarma P., Shukla A.K.* Emerging structural insights into GPCR- $\beta$ -arrestin interaction and functional outcomes // *Curr. Opin Struct. Biol.* 2022. V. 75.  
<https://doi.org/10.1016/j.sbi.2022.102406>
79. *Manglik A., Kobilka B.K., Steyaert J.* Nanobodies to Study G Protein-Coupled Receptor Structure and Function // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2017. V. 57. P. 19–37.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-104710>
80. *Mann O.N., Kong C.S., Lucas E.S. et al.* Expression and function of the luteinizing hormone choriogonadotropin receptor in human endometrial stromal cells // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. № 1.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-12495-9>
81. *Manna P.R., Pakarinen P., El-Hefnawy T., Huhtaniemi I.T.* Functional assessment of the calcium messenger system in cultured mouse Leydig tumor cells: Regulation of human chorionic gonadotropin-induced expression of the steroidogenic acute regulatory protein // *Endocrinology.* 1999. V. 140. № 4. P. 1739–1751.  
<https://doi.org/10.1210/endo.140.4.6650>
82. *Mazurkiewicz J.E., Herrick-Davis K., Barroso M. et al.* Single-molecule analyses of fully functional fluorescent protein-tagged follitropin receptor reveal homodimerization and specific heterodimerization with lutropin receptor // *Biol. Reprod.* 2015. V. 92. № 4. 100.  
<https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.125781>
83. *Meher B.R., Dixit A., Bousfield G.R., Lushington G.H.* Glycosylation Effects on FSH-FSHR Interaction Dynamics: A Case Study of Different FSH Glycoforms by Molecular Dynamics Simulations // *PLoS One.* 2015. V. 10. № 9. e0137897.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137897>
84. *Mejia R., Waite C., Ascoli M.* Activation of Gq/11 in the mouse corpus luteum is required for parturition // *Mol. Endocrinol.* 2015. V. 29. № 2. P. 238–246.  
<https://doi.org/10.1210/me.2014-1324>
85. *Mertens-Walker I., Bolitho C., Baxter R.C., Marsh D.J.* Gonadotropin-induced ovarian cancer cell migration and proliferation require extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation regulated by calcium and protein kinase C $\{\delta\}$  // *Endocr Relat Cancer.* 2010. V. 17. № 2. P. 335–349.  
<https://doi.org/10.1677/ERC-09-0152>
86. *Mishra S., Ling H., Grimm M. et al.* Cardiac hypertrophy and heart failure development through Gq and CaM kinase II signaling // *J. Cardiovasc Pharmacol.* 2010. V. 56. № 6. P. 598–603.  
<https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181e1d263>
87. *Misra U.K., Kaczowka S., Pizzo S.V.* The cAMP-activated GTP exchange factor, Epac1 upregulates plasma membrane and nuclear Akt kinase activities in 8-CPT-2-O-Me-cAMP-stimulated macrophages: Gene silencing of the cAMP-activated GTP exchange Epac1 prevents 8-CPT-2-O-Me-cAMP activation of Akt activity in macrophages // *Cell Signal.* 2008. V. 20. № 8. P. 1459–1470.  
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2008.04.002>
88. *Moore S., Jaeschke H., Kleinau G. et al.* Evaluation of small-molecule modulators of the luteinizing hormone/choriogonadotropin and thyroid stimulating hormone receptors: structure-activity relationships and selective binding patterns // *J. Med. Chem.* 2006. V. 49. № 13. P. 3888–3896.  
<https://doi.org/10.1021/jm060247s>
89. *Mukherjee S., Gurevich V.V., Preninger A. et al.* Aspartic acid 564 in the third cytoplasmic loop of the luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor is crucial for phosphorylation-independent interaction with arrestin2 // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 20. P. 17916–17927.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110479200>
90. *Munier M., Ayoub M., Suteau V. et al.* In vitro effects of the endocrine disruptor p,p'DDT on human choriogonadotropin/luteinizing hormone receptor signaling // *Arch Toxicol.* 2021. V. 95. № 5. P. 1671–1681.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-021-03007-1>

91. *Nascimento D.R., Barbalho E.C., Gondim Barrozo L. et al.* The mechanisms that control the preantral to early antral follicle transition and the strategies to have efficient culture systems to promote their growth *in vitro* // *Zygote*. 2023. V. 31. № 4. P. 305–315.  
<https://doi.org/10.1017/S0967199423000254>
92. *Nchourupouo K.W.T., Nde J., Ngouongo Y.J.W., Zekeng S.S., Fongang B.* Evolutionary Couplings and Molecular Dynamic Simulations Highlight Details of GPCRs Heterodimers' Interfaces // *Molecules*. 2023. V. 28. № 4. 1838.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28041838>
93. *Newton C.L., Whay A.M., McArdle C.A. et al.* Rescue of expression and signaling of human luteinizing hormone G protein-coupled receptor mutants with an allosterically binding small-molecule agonist // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2011. V. 108. P. 7172–7176.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1015723108>
94. *Núñez Miguel R., Sanders J., Furmaniak J., Rees Smith B.* Glycosylation pattern analysis of glycoprotein hormones and their receptors // *J. Mol. Endocrinol.* 2017. V. 58. № 1. P. 25–41.  
<https://doi.org/10.1530/JME-16-0169>
95. *Nwabuobi C., Arlier S., Schatz F. et al.* hCG: Biological Functions and Clinical Applications // *Int J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 10.  
<https://doi.org/10.3390/ijms18102037>
96. *Oestreich E.A., Malik S., Goonasekera S.A. et al.* Epac and phospholipase Cε regulate Ca<sup>2+</sup> release in the heart by activation of protein kinase Cε and calcium-calmodulin kinase II // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 3. P. 1514–1522.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M806994200>
97. *Olejnik B., Kratz E.M., Zimmer M., Ferens-Sieczkowska M.* Glycoprotein fucosylation is increased in seminal plasma of subfertile men // *Asian J. Androl.* 2015. V. 17. № 2. P. 274–280.  
<https://doi.org/10.4103/1008-682X.138187>
98. *Osuga Y., Hayashi M., Kudo M. et al.* Co-expression of defective luteinizing hormone receptor fragments partially reconstitutes ligand-induced signal generation // *J. Biol. Chem.* 1997. V. 272. № 40. P. 25006–25012.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.272.40.25006>
99. *Pakarainen T., Zhang F.P., Nurmi L., Poutanen M., Huhtaniemi I.* Knockout of luteinizing hormone receptor abolishes the effects of follicle-stimulating hormone on preovulatory maturation and ovulation of mouse graafian follicles // *Mol. Endocrinol.* 2005. V. 19. № 10. P. 2591–2602.  
<https://doi.org/10.1210/me.2005-0075>
100. *Petersen T.S., Kristensen S.G., Jeppesen J.V. et al.* Distribution and function of 3',5'-Cyclic-AMP phosphodiesterases in the human ovary // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2015. V. 403. P. 10–20.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.004>
101. *Puett D., Li Y., DeMars G., Angelova K., Fanelli F.* A functional transmembrane complex: the luteinizing hormone receptor with bound ligand and G protein // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2007. V. 260–262. P. 126–136.  
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.05.009>
102. *Qiao J., Han B.* Diseases caused by mutations in luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2019. V. 161. P. 69–89.  
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2018.09.007>
103. *Querat B.* Unconventional Actions of Glycoprotein Hormone Subunits: A Comprehensive Review // *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021. V. 12.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2021.731966>
104. *Riccetti L., De Pascali F., Gilioli L. et al.* Human LH and hCG stimulate differently the early signalling pathways but result in equal testosterone synthesis in mouse Leydig cells *in vitro* // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2017. V. 15. № 1–2.  
<https://doi.org/10.1186/s12958-016-0224-3>
105. *Riccetti L., Yvinec R., Klett D. et al.* Human Luteinizing Hormone and Chorionic Gonadotropin Display Biased Agonism at the LH and LH/CG Receptors // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. № 1. 940.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01078-8>
106. *Sairam M.R.* Role of carbohydrates in glycoprotein hormone signal transduction // *FASEB J.* 1989. V. 3. № 8. P. 1915–1926.  
<https://doi.org/10.1096/fasebj.3.8.2542111>
107. *Schulze A., Kleinau G., Neumann S. et al.* The intramolecular agonist is obligate for activation of glycoprotein hormone receptors // *FASEB J.* 2020. V. 34. № 8. P. 11243–11256.  
<https://doi.org/10.1096/fj.202000100R>
108. *Segaloff D.L.* Regulatory processes governing the cell surface expression of LH and FSH receptors // *Subcell Biochem.* 2012. V. 63. P. 113–129.  
[https://doi.org/10.1007/978-94-007-4765-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4765-4_7)
109. *Shimizu-Albergine M., Tsai L.C., Patrucco E., Beavo J.A.* cAMP-specific phosphodiesterases 8A and 8B, essential regulators of Leydig cell

- steroidogenesis // *Mol. Pharmacol.* 2012. V. 81. № 4. P. 556–566.  
<https://doi.org/10.1124/mol.111.076125>
110. *Shpakov A.O.* Allosteric Regulation of G-Protein-Coupled Receptors: From Diversity of Molecular Mechanisms to Multiple Allosteric Sites and Their Ligands // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 7.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24076187>
111. *Shpakov A.O., Bakhtyukov A.A., Dar'in D.V., Derkach K.V.* Pretreatment of rats with an allosteric luteinizing hormone receptor agonist augments chorionic gonadotropin-induced stimulation of testosterone production // *J. Evol. Biochem. Physiol.* 2019. V. 55. № 6. P. 510–514.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093019060115>
112. *Shpakov A.O., Dar'in D.V., Derkach K.V., Lobanov P.S.* The stimulating influence of thienopyrimidine compounds on the adenylyl cyclase systems in the rat testes // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2014. V. 456. P. 104–107.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672914030065>
113. *Shpakova E.A., Derkach K.V., Shpakov A.O.* Biological activity of lipophilic derivatives of peptide 562–572 of rat luteinizing hormone receptor // *Dokl. Biochem Biophys.* 2013. V. 452. № 1. P. 248–250.  
<https://doi.org/10.1134/S1607672913050116>
114. *Shpakova E.A., Sorokoumov V.N., Akent'ev A.V. et al.* The Relationship between Micelle Formation and Biological Activity of Peptide 562–572 of Luteinizing Hormone Receptor Modified with Decanoyl Radicals // *Cell tissue Biol.* 2017. V. 11. P. 227–233.  
<https://doi.org/10.1134/S1990519X17030105>
115. *Slosky L.M., Caron M.G., Barak L.S.* Biased Allosteric Modulators: New Frontiers in GPCR Drug Discovery // *Trends Pharmacol Sci.* 2021. V. 42. № 4. P. 283–299.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.12.005>
116. *Sposini S., Hanyaloglu A.C.* Driving gonadotrophin hormone receptor signalling: the role of membrane trafficking // *Reproduction.* 2018. V. 156. № 6. P. R195–R208.  
<https://doi.org/10.1530/REP-18-0423>
117. *Stevenson H., Bartram S., Charalambides M.M. et al.* Kisspeptin-neuron control of LH pulsatility and ovulation // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022. V. 13. 951938.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.951938>
118. *Tan Y., Xu P., Huang S. et al.* Structural insights into the ligand binding and G<sub>i</sub> coupling of serotonin receptor 5-HT<sub>5A</sub> // *Cell Discov.* 2022. V. 8. № 1. 50.  
<https://doi.org/10.1038/s41421-022-00412-3>
119. *Toulis K.A., Goulis D.G., Venetis C.A. et al.* Thyroid autoimmunity and miscarriages: the corpus luteum hypothesis // *Med. Hypotheses.* 2009. V. 73. № 6. P. 1060–1062.  
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.05.012>
120. *Trehan A., Rotgers E., Coffey E.T., Huhtaniemi I., Rivero-Müller A.* CANDLES, an assay for monitoring GPCR induced cAMP generation in cell cultures // *Cell Commun Signal.* 2014. V. 12. <https://doi.org/10.1186/s12964-014-0070-x>
121. *Van de Lagemaat R., Raafs B.C., van Koppen C. et al.* Prevention of the onset of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) in the rat after ovulation induction with a low molecular weight agonist of the LH receptor compared with hCG and rec-LH // *Endocrinology.* 2011. V. 152. № 11. P. 4350–4357.  
<https://doi.org/10.1210/en.2011-1077>
122. *Van de Lagemaat R., Timmers C.M., Kelder J. et al.* Induction of ovulation by a potent, orally active, low molecular weight agonist (Org 43553) of the luteinizing hormone receptor // *Hum Reprod.* 2009. V. 24. № 3. P. 640–648.  
<https://doi.org/10.1093/humrep/den412>
123. *Van de Lagemaat R., van Koppen C.J., Krajinč-Franken M.A. et al.* Contraception by induction of luteinized unruptured follicles with short-acting low molecular weight FSH receptor agonists in female animal models // *Reproduction.* 2011. V. 142. № 6. P. 893–905.  
DOI: 10.1530/REP-11-0234
124. *Vander Ark A., Cao J., Li X.* TGF-β receptors: In and beyond TGF-β signaling // *Cell Signal.* 2018. V. 52. P. 112–120.  
<https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.09.002>
125. *Van Koppen C.J., Zaman G.J., Timmers C.M. et al.* A signaling-selective, nanomolar potent allosteric low molecular weight agonist for the human luteinizing hormone receptor // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2008. V. 378. № 5. P. 503–514.  
<https://doi.org/10.1007/s00210-008-0318-3>
126. *Van Petegem F.* Ryanodine receptors: allosteric ion channel giants // *J. Mol. Biol.* 2015. V. 427. № 1. P. 31–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.08.004>
127. *Van Straten N.C., Schoonus-Gerritsma G.G., van Someren R.G. et al.* The first orally active low molecular weight agonists for the LH receptor:

- thienopyr(im)idines with therapeutic potential for ovulation induction. *Chembiochem*. 2002. V. 3. № 10. P. 1023–1026.  
[https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20021004\)3:10<1023::AID-CBIC1023>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20021004)3:10<1023::AID-CBIC1023>3.0.CO;2-9)
128. Wang X.N., Greenwald G.S. Human chorionic gonadotropin or human recombinant follicle-stimulating hormone (FSH)-induced ovulation and subsequent fertilization and early embryo development in hypophysectomized FSH-primed mice // *Endocrinology*. 1993. V. 132. № 5. P. 2009–2016.  
<https://doi.org/10.1210/endo.132.5.8477652>
  129. Wehbi V., Decourtye J., Piketty V. et al. Selective modulation of follicle-stimulating hormone signaling pathways with enhancing equine chorionic gonadotropin/antibody immune complexes // *Endocrinology*. 2010. V. 151. № 6. P. 2788–2799.  
<https://doi.org/10.1210/en.2009-0892>
  130. Wehbi V., Tranchant T., Durand G. et al. Partially deglycosylated equine LH preferentially activates beta-arrestin-dependent signaling at the follicle-stimulating hormone receptor // *Mol. Endocrinol.* 2010. V. 24. № 3. P. 561–573.  
<https://doi.org/10.1210/me.2009-0347>
  131. Wess J., Oteng A.B., Rivera-Gonzalez O., Gurevich E.V., Gurevich V.V.  $\beta$ -Arrestins: Structure, Function, Physiology, and Pharmacological Perspectives // *Pharmacol Rev.* 2023. V. 75. № 5. P. 854–884.  
<https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000302>
  132. Wide L., Eriksson K. Molecular size and charge as dimensions to identify and characterize circulating glycoforms of human FSH, LH and TSH // *Ups. J. Med. Sci.* 2017. V. 122. № 4. P. 217–223.  
<https://doi.org/10.1080/03009734.2017.1412373>
  133. Wide L., Eriksson K. Low-glycosylated forms of both FSH and LH play major roles in the natural ovarian stimulation // *Ups. J. Med. Sci.* 2018. V. 123. № 2. P. 100–108.  
<https://doi.org/10.1080/03009734.2018.1467983>
  134. Wide L., Eriksson K., Sluss P.M., Hall J.E. Determination of Half-lives of Circulating FSH and LH Glycoforms in Women During GnRH Receptor Blockade // *J. Clin Endocrinol Metab.* 2022. V. 107. № 10. e4058–e4062.  
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgac434>
  135. Wolf-Ringwall A.L., Winter P.W., Roess D.A., George Barisas B. Luteinizing hormone receptors are confined in mesoscale plasma membrane microdomains throughout recovery from receptor desensitization // *Cell Biochem Biophys.* 2014. V. 68. № 3. P. 561–569.  
<https://doi.org/10.1007/s12013-013-9738-x>
  136. Wortmann L., Lindenthal B., Muhn P. et al. Discovery of BAY-298 and BAY-899: Tetrahydro-1,6-naphthyridine-Based, Potent, and Selective Antagonists of the Luteinizing Hormone Receptor Which Reduce Sex Hormone Levels in Vivo // *J. Med. Chem.* 2019. V. 62. № 22. P. 10321–10341.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01382>
  137. Wu A., Salom D., Hong J.D. et al. Structural basis for the allosteric modulation of rhodopsin by nanobody binding to its extracellular domain // *Nat Commun.* 2023. V. 14. № 1. 5209.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-40911-9>
  138. Wu H., Lustbader J.W., Liu Y., Canfield R.E., Hendrickson W.A. Structure of human chorionic gonadotropin at 2.6 Å resolution from MAD analysis of the selenomethionyl protein // *Structure.* 1994. V. 2. № 6. P. 545–558.  
[https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(00\)00054-x](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(00)00054-x)
  139. Zariñán T., Butnev V.Y., Gutiérrez-Sagal R. et al. In Vitro Impact of FSH Glycosylation Variants on FSH Receptor-stimulated Signal Transduction and Functional Selectivity // *J. Endocr. Soc.* 2020. V. 4. № 5.  
<https://doi.org/10.1210/jendso/bvaa019>
  140. Zenzmaier C., Gerth R., Gruschwitz M. et al. Decreased levels of genuine large free hCG alpha in men presenting with abnormal semen analysis // *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2011. V. 9.  
<https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-114>
  141. Zhang H., Kong Q., Wang J., Jiang Y., Hua H. Complex roles of cAMP-PKA-CREB signaling in cancer // *Exp. Hematol. Oncol.* 2020. V. 9. № 1. 32. <https://doi.org/10.1186/s40164-020-00191-1>
  142. Zhang L., Shi G. Gq-Coupled Receptors in Autoimmunity // *J. Immunol. Res.* 2016. V. 2016.  
<https://doi.org/10.1155/2016/3969023>
  143. Zhang M., Chen T., Lu X. et al. G protein-coupled receptors (GPCRs): Advances in structures, mechanisms, and drug discovery // *Signal Transduct Target Ther.* 2024. V. 9. № 1.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-024-01803-6>
  144. Zheng M., Cadenas J., Pors S.E. et al. Reducing 3D Hydrogel Stiffness, Addition of Oestradiol in a Physiological Concentration and Increasing FSH Concentration Improve In Vitro Growth

- of Murine Preantral Follicles // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 15. 12499.  
<https://doi.org/10.3390/ijms241512499>
145. *Zhu C., Lan X., Wei Z., Yu J., Zhang J.* Allosteric modulation of G protein-coupled receptors as a novel therapeutic strategy in neuropathic pain // *Acta Pharm Sin B.* 2024. V. 14. № 1. P. 67–86.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.07.020>
146. *Zhu X., Gilbert S., Birnbaumer M., Birnbaumer L.* Dual signaling potential is common among  $G_s$ -coupled receptors and dependent on receptor density // *Mol. Pharmacol.* 1994. V. 46. № 3. P. 460–469.
147. *Zoenen M., Urizar E., Swillens S., Vassart G., Costagliola S.* Evidence for activity-regulated hormone-binding cooperativity across glycoprotein hormone receptor homomers // *Nat Commun.* 2012. V. 3. 1007.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms1991>

## Multiple Mechanisms of Allosteric Regulation of the Lutenizing Hormone Receptor

A. O. Shpakov\*, K. V. Derkach\*\*

*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg, 194223 Russia*

*\*E-mail: alex\_shpakov@list.ru*

*\*\*E-mail: derkach\_k@list.ru*

**Abstract** – The regulatory effects of luteinizing hormone (LH) and chorionic gonadotropin (CG) are realized through the activation of the G-protein coupled LH/CG receptor (LH/CG-R). The result of this is the activation of various types of G proteins, which leads to stimulation ( $G_s$ ) or inhibition ( $G_i$ ) of the cAMP-dependent pathway and stimulation of calcium signaling ( $G_{q/11}$ ,  $G_i$ ), and the recruitment of  $\beta$ -arrestins, which prevent G protein signaling through receptor internalization and downregulation, but can also activate the mitogen-activated protein kinase cascade. Despite a certain similarity in the effects of LH and CG, there are differences between them both in efficiency and in the pattern of regulation of LH/CG-R. This is a consequence of differences in the affinity of LH and CG to the orthosteric site of the receptor, as well as differences at the level of allosteric regulation of the receptor, which is due to the presence of a C-terminal extension in the  $\beta$ -subunit of CG, including sites for O-glycosylation, and the variability of N-glycosylation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits of gonadotropins. Moreover, the number of N-glycans, the degree of their branching and charge differ, which leads to different efficiency of activation of intracellular cascades, affecting the physiological response of the reproductive system to gonadotropins. Of great importance is the formation of homodi(oligo)meric complexes of LH/CG-R and its heterocomplexes with the follicle-stimulating hormone receptor, where protomers allosterically influence the efficiency of LH/CG-R activation and the bias of signal transduction. Taking into account the large number of allosteric sites in LH/CG-R, the development of low-molecular allosteric regulators is underway, including agonists based on thieno[2,3-d]-pyrimidine and peptides derived from the cytoplasmic loops of LH/CG-R. These regulators can become prototypes of drugs for correcting the functions of the reproductive system. This review is devoted to the analysis of data on the similarities and differences in the signaling and physiological effects of gonadotropins with LH activity, the role of allosteric mechanisms in this, and the prospects for creating allosteric regulators of LH/CG-R.

**Keywords:** luteinizing hormone receptor, human chorionic gonadotropin, allosteric site, reproductive system, folliculogenesis, ovulation, steroidogenesis

УДК 591.112.1

## ХЛОРНЫЕ МЕМБРАННЫЕ КАНАЛЫ И ТРАНСПОРТЕРЫ – РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЙСМЕКЕРНОГО И РАБОЧЕГО МИОКАРДА

© 2024 г. Я. А. Воронина<sup>а, б, \*</sup>, А. М. Кархов<sup>а, б, \*\*</sup>, В. С. Кузьмин<sup>а, б, \*\*\*</sup>

<sup>а</sup>Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет,

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119234 Россия

<sup>б</sup>Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова Минздрава России, Москва, 121552 Россия

\*E-mail: voronina.yana.2014@post.bio.msu.ru

\*\*E-mail: akarchoff@gmail.com

\*\*\*E-mail: ku290381@mail.ru

Поступила в редакцию 28.03.2024 г.

После доработки 29.07.2024 г.

Принята к публикации 09.08.2024 г.

Хлорид-анионы оказывают значительное влияние на электрофизиологические свойства возбудимых тканей, в том числе и миокардиальной ткани. Анионы хлора и трансмембранные хлорные токи ( $I_{Cl}$ ) определяют конфигурацию потенциалов действия (ПД) в различных участках здорового сердца, а нарушение трансмембранного переноса хлора вызывает изменение нормальной электрической активности, что приводит к сердечным патологиям и аритмиям. На данный момент для нескольких типов макромолекул подтверждена хлорная проводимость и экспрессия в сердце, а также имеются сведения, указывающие на функциональную роль этих каналов в миокарде. К таким каналам относятся CFTR, ClC-2, CaCC (TMEM16) и VRAC (LRRC8x). Кроме того, значительный вклад в регуляцию внутриклеточной концентрации анионов хлора ( $[Cl^-]_i$ ) и, соответственно, равновесного потенциала для анионов хлора ( $E_{Cl}$ ) вносят хлорные котранспортеры (KCC, NKCC) и хлор-бикарбонатные обменники. В данном обзоре рассмотрены механизмы, посредством которых хлорный трансмембранный транспорт влияет на биоэлектрическую активность кардиомиоцитов. Кроме того, в обзоре сделаны предположения о потенциальных функциях хлора и хлорных токов в специализированных участках сердца.

**Ключевые слова:** синоатриальный узел, атриовентрикулярный узел, хлорные каналы, катион-хлорные котранспортеры, хлор-бикарбонатный обменник.

**DOI:** 10.31857/S0301179824040041 **EDN:** ANBULD

**Сокращения:**  $[Ca^{2+}]_i$  – внутриклеточная концентрация кальция;  $[Cl^-]_i$  – внутриклеточная концентрация анионов хлора;  $[Cl^-]_o$  – внеклеточная концентрация анионов хлора;  $\beta$ -АР –  $\beta$ -адренорецепторы; АВУ – атриовентрикулярный узел; ГМК – гладкомышечные клетки; ДПД – длительность потенциала действия; И-Р – ишемия-реперфузия; МДД – медленная диастолическая деполяризация; МДП – максимальный диастолический потенциал; МП – мембранный потенциал; ПД – потенциал действия; ПП – потенциал покоя; РПД – ранние постдеполяризации; САУ – синоатриальный узел; CaCC – кальций-зависимые хлорные каналы; CFTR – трансмембранный регулятор муковисцидоза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator); ClC – потенциал-управляемые хлорные каналы (chloride channels);  $E_{Cl}$  – равновесный потенциал для анионов хлора; GPCR – G-белок сопряженными рецептарами;  $I_{Cl}$  – трансмембранный хлорный ток;  $I_{Cl, Ca}$  – кальций-чувствительный хлорный ионный ток;  $I_{Cl, ir}$  – активируемый гиперполяризацией хлорный ток с входящим выпрямлением;  $I_{Cl, PKA}$  – PKA-зависимый хлорного тока; KCC – котранспортер калия и хлора; LRRC – белки, содержащие повторы, обогащенные лейцином (leucine rich repeats containing); NKCC – котранспортер калия, натрия и хлора; PKA – протеинкиназа А; VRAC – анионные каналы, регулируемые объемом (volume-regulated anion channels).

Хлор является неорганическим анионом в биологических системах, который определяет электрофизиологические свойства возбудимых клеток и тканей, в том числе миокарда. Анионы хлора и трансмембранные хлорные токи играют существенную роль в формировании конфигурации потенциалов действия (ПД) в различных участках здорового сердца, а нарушение гомеостаза и трансмембранного переноса хлора вызывает изменение нормальной электрической активности, что приводит к сердечным патологиям и нарушениям ритма сердца. С другой стороны, заболевания сердечно-сосудистой системы, сопровождающиеся ремоделированием миокарда, могут приводить к изменению экспрессии и функционирования хлорных ионных каналов кардиомиоцитов. Например, при гипертрофии миокарда наблюдается увеличение плотности некоторых хлорных токов ( $I_{Cl,ir}$ ) в желудочковых кардиомиоцитах [65]. Кроме того, увеличение плотности механочувствительных хлорных токов наблюдается и при сердечной недостаточности. Дисрегуляция хлорной трансмембранной проводимости способствует индукции аритмий в рабочем миокарде и в проводящей системе сердца [83], например, за счет нарушения нормального распространения волны возбуждения.

В последние годы идентифицирован целый ряд мембранных белков, демонстрирующих хлорную проводимость. Также идентифицирован целый ряд молекул-кандидатов, которые потенциально могут осуществлять трансмембранный перенос анионов хлора. В данном обзоре приведены известные сведения о влиянии отдельных хлорных каналов и транспортеров на электрическую активность в различных участках сердца млекопитающих и человека. В обзоре предложены механизмы регуляции  $[Cl^-]_i$ ,  $E_{Cl}$  и  $I_{Cl}$  в пейсмекере сердца и сократительном миокарде предсердий и желудочков.

### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ХЛОРНЫХ АНИОННЫХ ТОКОВ КАРДИОМИОЦИТОВ

Известно, что  $[Cl^-]$  в плазме крови млекопитающих и человека составляет 105–107 ммоль/л, в то время как интерстициальная (внеклеточная,  $[Cl^-]_o$ ) концентрация  $Cl^-$  выше: в сердечной ткани  $[Cl^-]_o$  составляет около 115–125 ммоль/л, а согласно некоторым данным, может достигать 145 ммоль/л [38]. Соответственно,  $E_{Cl}$  в кардиомиоцитах лежит в диапазоне от –65 до –40 мВ. Таким образом,  $E_{Cl}$  значительно позитивнее потенциала покоя “рабочих” кардиомиоцитов (–78...–82 мВ) предсердий и желудочков.

Очевидно, что при значениях МП негативнее  $E_{Cl}$   $Cl^-$  через ионные (хлорные) каналы будут перемещаться из цитоплазмы кардиомиоцитов во внеклеточную среду. Физически перемещение ионов

$Cl^-$  через мембрану будет *выходящим*, однако так как трансмембранный ионный ток определяется по направлению перемещения положительных зарядов, то хлорный ток ( $I_{Cl}$ ) будет обозначен как *входящий*, и, соответственно, *деполярирующий*. При значениях МП позитивнее  $E_{Cl}$   $Cl^-$  через каналы будут перемещаться из внеклеточной среды в цитоплазму, а  $I_{Cl}$  становится *выходящим* (реполяривающим).

Поскольку  $E_{Cl}$  позитивнее ПП, характерного для рабочих кардиомиоцитов предсердий и желудочков,  $I_{Cl}$  оказывает двойное действие на электрическую активность. Входящая компонента  $I_{Cl}$  способствует начальной фазе деполяризации ПД (фаза 0) и замедляет окончательную реполяризацию ПД (фаза 3). Выходящая составляющая  $I_{Cl}$  подавляет деполяризацию, способствует снижению скорости фронта ПД, снижению амплитуды овершута, способствует сдвигу потенциала фазы плато к более негативным значениям, а также ускорению реполяризации ПД (начало фазы 3, рис. 1, а–б) и уменьшению длительности ПД (ДПД) [16, 20].

Исходя из предположения, что  $[Cl^-]_i$  лежит в диапазоне от 5–15 ммоль/л,  $E_{Cl}$  может быть равным или негативным относительно максимального (т. е. наибольшего по модулю) диастолического потенциала (МДП), наблюдаемого в пейсмекерных кардиомиоцитах ритмоводителя сердца – синоatriального узла (САУ). Известно, что в кардиомиоцитах центральной части САУ человека и других млекопитающих МДП лежит в диапазоне –68 – –55 мВ. Таким образом, в пейсмекерных кардиомиоцитах  $I_{Cl}$  должен являться *выходящим* и реполяривающим при всех значениях мембранного потенциала. Теоретически  $I_{Cl}$  пейсмекерных кардиомиоцитов должен способствовать замедлению медленной диастолической деполяризации (МДД), замедлению деполяризации и ускорять реполяризацию ПД. Следует учесть, что  $[Cl^-]_i$  в “рабочих” кардиомиоцитах и кардиомиоцитах САУ может существенно различаться. В кардиомиоцитах САУ  $[Cl^-]_i$  может быть повышена, например в результате усиленной экспрессии NKCC1. В том случае, если  $[Cl^-]_i$  в САУ заметно больше 15 ммоль/л, то  $E_{Cl}$  оказывается позитивнее МДП и хлорные токи могут способствовать увеличению скорости МДД (см. рис. 1, в). В настоящее время  $[Cl^-]_i$  в кардиомиоцитах САУ не установлена.

Для кардиомиоцитов периферии САУ, демонстрирующих латентные пейсмекерные свойства, характерен более негативный МДП (–75...–65 мВ). В этих клетках, даже если  $[Cl^-]_i$  составляет 5–15 ммоль/л,  $I_{Cl}$  будет способствовать МДД и предотвращать латентные кардиомиоциты периферии САУ от гиперполяризации со стороны рабочих кардиомиоцитов предсердий [75]. Этот эффект будет облегчать передачу возбуждения от центральной части САУ к рабочему миокарду.

*Роль CFTR ( $I_{Cl,PKA}$ ) в кардиомиоцитах*

Экспрессия кардиоспецифичной изоформы CFTR показана для кардиомиоцитов предсердий и желудочков у многих видов позвоночных животных, в том числе человека [19, 29, 32, 39, 51, 71, 72, 78].

CFTR может взаимодействовать со многими мембранными белками, которые прямо или косвенно влияют на функцию других ионных каналов и транспортеров, а также с другими хлорными каналами, например, CaCC или VRAC [12, 49]. Предполагается, что каналы CFTR могут динамически формировать в мембране крупные макромолекулярные комплексы, которые содержат сигнальные молекулы, киназы и транспортные белки [79]. В желудочковых кардиомиоцитах крысы показана колокализация CFTR с паннексинами (Panx1), а также с обменниками  $Na^+/H^+$  и  $Na^+/Ca^{2+}$  [41].

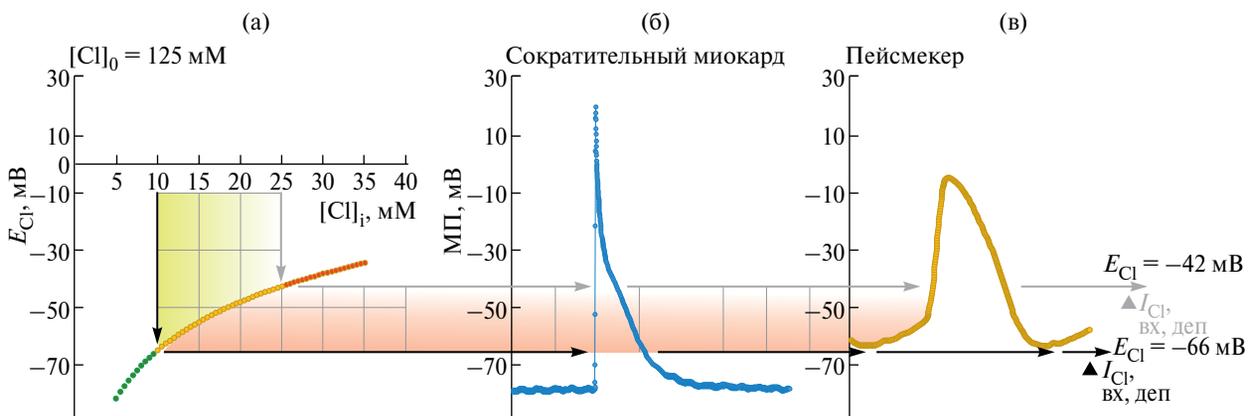
Установлено, что активация CFTR и увеличение тока  $I_{Cl,PKA}$  приводит к гиперполяризации и уменьшению ДПД кардиомиоцитов [38], а снижение активности CFTR – к замедлению реполяризации ПД кардиомиоцитов рабочего миокарда [50] (см. рис. 2, а). С одной стороны, CFTR предотвращает возникновение ранних постдеполяризаций (РПД) в рабочем миокарде во время фазы плато или фазы реполяризации [79]. Кроме того, активация CFTR способствует снижению спонтанной электрической активности миокарда при стимуляции  $\beta$ -АР [21, 64]. С другой стороны, уменьшение ДПД, обусловленное  $I_{Cl}$ , может способствовать развитию аритмий по типу re-entry в результате уменьшения

длительности периода рефрактерности [14]. Таким образом, эффекты активации CFTR являются двоякими относительно аритмогенеза.

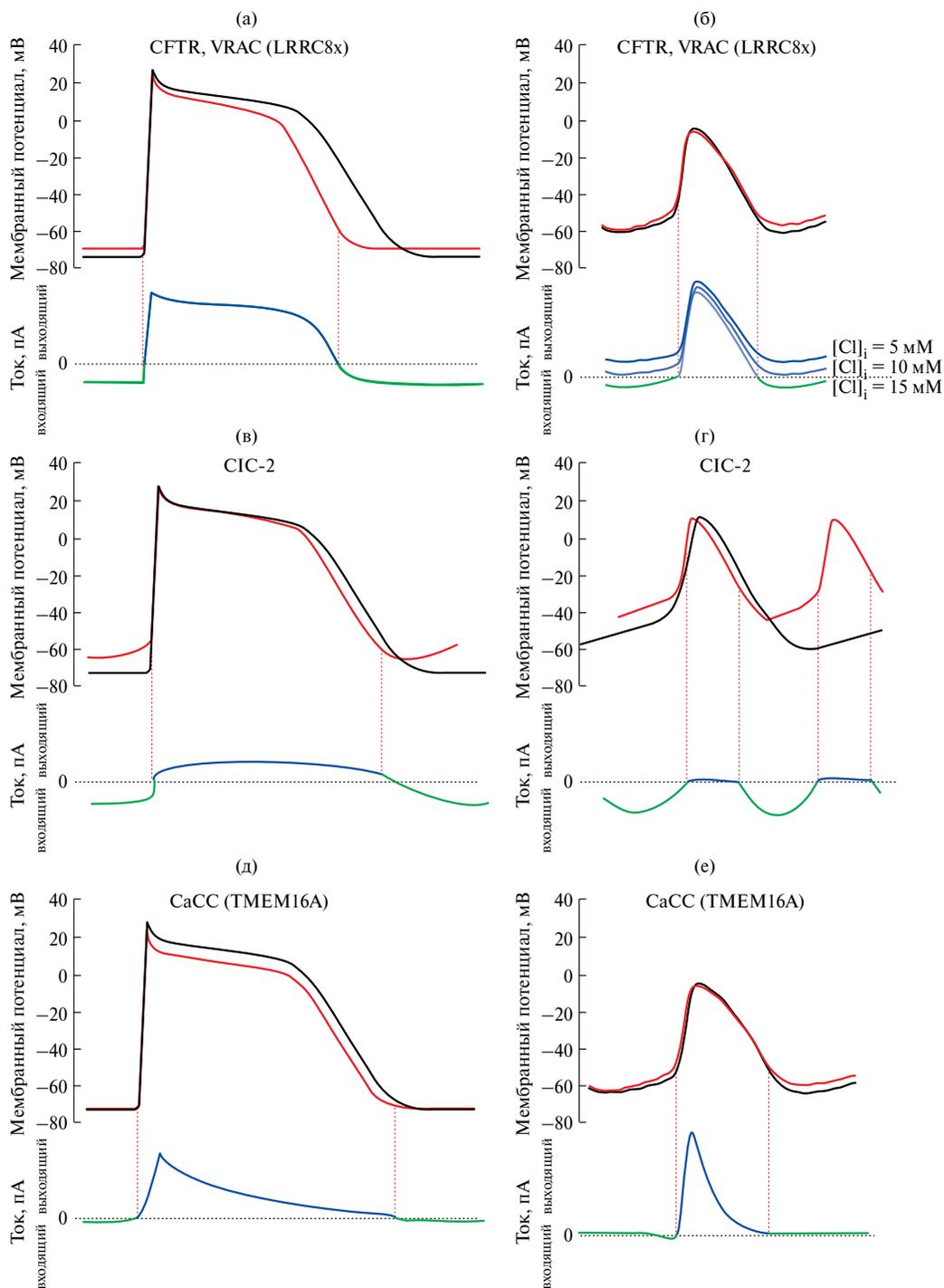
В норме экспрессия CFTR увеличивается от эндокарда к эпикарду и, соответственно,  $I_{Cl,PKA}$  вносит вклад в трансмуральный разброс (или градиент) электрофизиологических свойств желудочкового миокарда. Этот разброс усиливается при адренергической стимуляции. У кроликов в модели сердечной недостаточности профиль распределения CFTR меняется в сторону уменьшения эпикардальной экспрессии канала, что опять же приводит к повышению вероятности возникновения сердечных аритмий.

Известно, что в САУ высок базальный уровень активности PKA. В связи с этим CFTR/ $I_{Cl,PKA}$  должны оказывать существенное влияние на работу пейсмекера, которое может выражаться как в облегчении, так и в подавлении автоматии в зависимости от уровня  $[Cl^-]_i$  (см. рис. 2, б). Эффекты CFTR/ $I_{Cl,PKA}$  в пейсмекерном миокарде практически не изучены.

Каналы CFTR и ток  $I_{Cl,PKA}$ , видимо, обуславливают множество опосредованных и непрямых эффектов в сердце. Селективная блокада CFTR вызывает снижение скорости сокращения желудочковых кардиомиоцитов, а также активацию потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа, увеличение  $[Ca^{2+}]_i$  и ингибирование активности PKA в кардиомиоцитах [66]. У мышей, нокаутных по *Cfir*, наблюдается увеличение давления, развиваемого левым желудочком, и уменьшение



**Рис. 1.** Диапазон значений равновесного потенциала по хлору ( $E_{Cl^-}$ ) в кардиомиоцитах. Внеклеточная концентрация хлора ( $[Cl^-]_o$ ) – 125 мМ. а – зависимость  $E_{Cl^-}$  от  $[Cl^-]_i$ . Желтая часть пунктирной кривой обозначает физиологический диапазон возможной  $[Cl^-]_i$  и  $E_{Cl^-}$  в кардиомиоцитах различных отделов сердца, красная и зеленая части пунктирной кривой – возможные значения  $[Cl^-]_i$  и  $E_{Cl^-}$  в кардиомиоцитах при гипотоническом и гипертоническом стрессе; б – потенциал действия в кардиомиоцитах сократительного (рабочего) миокарда. Область, обозначенная красным цветом – диапазон изменения  $E_{Cl^-}$  в зависимости от  $[Cl^-]_i$ ; в – потенциал действия в кардиомиоцитах синоатриального узла, обладающих пейсмекерной активностью. Черный и серый треугольники – значения МП, вплоть до которого имеет место входящая деполяризующая компонента  $I_{Cl}$  (при данном значении  $[Cl^-]_i$ ).  $I_{Cl}$ , vx, деп – деполяризующий входящий хлорный ток, МП – мембранный потенциал.



**Рис. 2.** Верхние панели – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцитов рабочего (слева) и пейсмекерного (справа) миокарда при активации хлорных каналов. Черный цвет – потенциал действия в контроле, красный цвет – потенциал действия при активации разных типов хлорных каналов – CFTR (а–б), LRRC8x (а–б), CIC-2 (в–г), TMEM16A (д–е). Нижние панели – изменение хлорного тока через разные хлорные каналы в зависимости от мембранного потенциала в ходе потенциала действия кардиомиоцитов рабочего (слева) и пейсмекерного (справа) миокарда – CFTR (а–б), LRRC8x (а–б), CIC-2 (в–г), TMEM16A (д–е). Зеленый цвет – входящий ток (ионы хлора выходят из клетки), синий цвет – выходящий ток (ионы хлора входят в клетку). На панели б входящая и выходящая компонента тока показаны для трех значений  $[Cl^-]_i$ , поскольку эта величина может различаться для центральной и периферической частей гетерогенной ткани САУ, что обуславливает различные электрофизиологические эффекты. Кривые построены с использованием уравнения Гольдмана–Ходжкина–Каца (ГХК) для трансмембранного ионного тока и учета вероятности пребывания канала в открытом состоянии.

сократительной активности в ответ на стимуляцию  $\beta$ -АР [45], гистаминовых и пуриновых рецепторов [19], а также уменьшение фракции выброса [45]. Показано, что активатор CFTR лубипростон приводит к снижению частоты и силы сокращения кардиомиоцитов [1].

Известно, что ток через канал CFTR усиливается во время ишемии и проявляет кардиопротекторные свойства [72]. При гипоксии происходит увеличение экспрессии CFTR в плазматической мембране желудочковых кардиомиоцитов новорожденных крыс [72]. В свою очередь, размер инфаркта при ишемии-реперфузии (И-Р) у мышей, нокаутных по гену *Cfir*, значимо больше по сравнению с мышами дикого типа. Кроме того, активатор CFTR гинестеин приводит к уменьшению площади зоны повреждения при И-Р у мышей *in vivo*. CFTR важен при ишемическом пре- и посткондиционировании миокарда для защиты от некроза [9] и апоптоза [79].

#### Роль $ClC-2$ ( $I_{Cl,ir}$ ) в кардиомиоцитах

В 1961 г. в экспериментах с волокнами Пуркинье собаки и овцы было установлено, что замена внеклеточного  $Cl^-$  на органические анионы, не способные проникать через мембрану, приводит к временному увеличению, а затем к снижению частоты спонтанных ПД до 40–90% от контрольного значения [40]. В 1979 г. с помощью метода фиксации потенциала был обнаружен потенциал-зависимый хлорный ток входящего выпрямления в клетках САУ кролика ( $I_{Cl,ir}$ ) [67]. Входящий ток регистрировали только при значениях МП негативнее  $-60$  мВ. Было показано, что входящая компонента обнаруженного тока способствовала МДД. Замена внеклеточного  $Cl^-$  на ацетат приводила к снижению частоты спонтанных ПД в САУ и увеличению их амплитуды [67]. Позднее ионный ток с аналогичными характеристиками был обнаружен в другом типе ткани, демонстрирующем автоматию и пейсмекерные ПД – в миокардиальной стенке венозного синуса амфибий [8]. Поскольку в то время молекулярный субстрат для этого тока еще не был идентифицирован, роль хлора как переносчика анионного активируемого гиперполяризацией тока подвергалась сомнению [26]. За последние 20 лет накоплено достаточно доказательств, которые позволяют атрибутировать трансмембранный ионный ток, способствующий МДД и обладающий аномальным выпрямлением ( $I_{Cl,ir}$ ), с хлорными каналами  $ClC-2$  [6, 7, 48, 49, 68]. В настоящее время показано, что каналы  $ClC-2$  экспрессируются в кардиомиоцитах предсердий и желудочков сердца человека [31], морских свинок [7, 18], мышей [18], крыс [7, 48] и других млекопитающих. Кроме того, для  $ClC-2$  показана экспрессия в кардиомиоцитах САУ морских свинок [37].

Установлено, что ионный ток, опосредуемый именно каналами  $ClC-2$ , играет важную роль в поддержании пейсмекерной активности САУ наряду с “классическими” пейсмекерными токами ( $I_f$ ,  $I_{NCX}$ ) [37]. При значениях МП более отрицательных, чем  $E_{Cl}$ , открытие каналов  $ClC-2$  приводит к входящему току, ускорению МДД и деполяризации. Однако в результате аномального выпрямления выходящая реполяризующая компонента  $I_{Cl,ir}$  оказывается мала и практически не влияет на пейсмекерные ПД. Таким образом,  $I_{Cl,ir}$  способствует только деполяризации (см. рис. 2, в–г). В том случае когда в пейсмекерных кардиомиоцитах происходит увеличение  $[Cl^-]_i$ ,  $E_{Cl}$  для этих клеток оказывается существенно позитивнее МДП и может быть позитивнее порога ПД ( $-45$  мВ) [37]. Поэтому входящая компонента  $I_{Cl,ir}$  может увеличивать не только скорость МДД, приводя к более быстрому достижению порогового потенциала, но и скорость фронта ПД.

Каналы  $ClC-2$  играют важную роль в регуляции пейсмекерной активности при патологических состояниях [1, 7, 18, 37, 48]. Показано, что “гипотонический стресс” и гиперволюция приводят к увеличению скорости МДД, уменьшению МДП, амплитуды и длительности ПД в изолированных клетках САУ. Эти эффекты в основном исчезают при иммунопреципитации каналов  $ClC-2$  специфическими антителами [37]. Поскольку предполагается, что  $ClC-2$  обладают механочувствительностью и их проводимость увеличивается при растяжении клетки, то вышеуказанные эффекты могут быть обусловлены током  $I_{Cl,ir}$ .

Важно, что иммунопреципитация  $ClC-2$  не оказывала влияния на вызванное гиперволюцией уменьшение ДПД, что является дополнительным свидетельством наличия аномального выпрямления у ионного тока  $I_{Cl,ir}$  [37].

Считается, что способность  $I_{Cl,ir}/ClC-2$  вызывать деполяризацию при значениях МП негативнее  $E_{Cl}$  повышает вероятность возникновения аритмий в миокарде предсердий и желудочков. Предполагается, что хлорный ток, опосредованный  $ClC-2$ , является составляющей частью деполяризующего тока, возникающего при задержанных постдеполяризациях ( $I_{DAD}$ ). В миокарде лёгочных вен, который является основным аритмогенным субстратом в суправентрикулярной области сердца, преимущественным и сильно выраженным током, активируемым гиперполяризацией, является не  $I_f$ , а  $I_{Cl,ir}/ClC-2$ . Показано также, что активация тока  $I_f$  происходит при более позитивных значениях МП, чем активация  $I_{Cl,ir}$  [70]. В связи с этим блокаторы  $ClC-2$  могут быть потенциальными антиаритмиками.

У мышей, нокаутных по *Clen2*, повышается вероятность возникновения блоков проведения в АВУ и наблюдается уменьшение хронотропного

ответа на острую физическую нагрузку по сравнению с мышами дикого типа [45]. Возможно, что стимуляция каналов  $ClC-2$  при активации сигнального каскада  $\beta$ -АР/АЦ/РКА является одним из механизмов увеличения ЧСС и контроля длительности АВ-задержки [15, 27, 31].

*Роль VRAC/LRRC8x  
( $I_{Cl, vol}$ ,  $I_{Cl, swell}$ ) в кардиомиоцитах*

Имеющиеся данные об эффектах тока  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ), формируемого каналами LRRC8x, весьма противоречивы и не полны. С одной стороны, предполагается, что в нормальных условиях ток  $I_{Cl, vol}$  ( $I_{Cl, swell}$ ) невелик или отсутствует вовсе, однако сильно возрастает при растяжении клеточной мембраны или при помещении клеток в гипосмотический раствор [20]. Однако в некоторых работах утверждается что  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ) критически важен для стабилизации ПП [66]. Поскольку  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ) был обнаружен в пейсмекерных клетках, то предполагается, что он играет “значительную” роль в реализации пейсмекерной функции САУ и АВУ.

Активация тока  $I_{Cl, vol}$  ( $I_{Cl, swell}$ ) приводит к деполяризации и уменьшению ДПД в рабочем миокарде [16, 17, 34, 74] (см. рис. 2, а). Как и в случае с CFTR, эффекты  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ) в САУ будут сильно зависеть от  $[Cl^-]$ . В рабочем миокарде, опять же по аналогии с CFTR, укорочение ПД и, соответственно, рефрактерности при активации  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ) может способствовать возникновению контуров циркуляции возбуждения (re-entry), а также индукции фибрилляции предсердий или желудочков. Имеются данные, что  $I_{Cl, vol}$  предотвращает увеличение длительности фазы плато ПД, обусловленное усилением кальциевого тока  $I_{Ca,L}$  при стимуляции  $\beta$ -АР [22]. Имеются сведения, что  $I_{Cl, vol}$  ( $I_{Cl, swell}$ ) в кардиомиоцитах легочных вен способствует деполяризации мембраны, инактивации потенциал-зависимых натриевых каналов, нарушению проводимости и эктопической активности внутри лёгочных вен. Кроме того,  $I_{Cl, vol}$  ( $I_{Cl, swell}$ ) может как уменьшать, так и увеличивать частоту возникновения ранних постдеполяризаций в специфических участках миокарда [24].

Следует упомянуть, что ранее ток  $I_{Cl, vol}$ , ( $I_{Cl, swell}$ ) атрибутировали с  $Cl^-/H^+$ -обменниками  $ClC-3$ . Изменение экспрессии этого белка действительно влияет на электрические и сократительные свойства миокарда. Экспериментальное усиление экспрессии гена *Clcn3* у мышей приводит к уменьшению длительности QT-интервала, а также рефрактерности в желудочках [83]. Делеция гена *Clcn3* приводит к уменьшению фракции выброса, развитию гипертрофии миокарда и сердечной недостаточности у взрослых мышей [20, 80]. Стимуляция  $\beta$ -АР приводит к снижению уровня экспрессии

$ClC-3$  в гипертрофированных кардиомиоцитах [55].

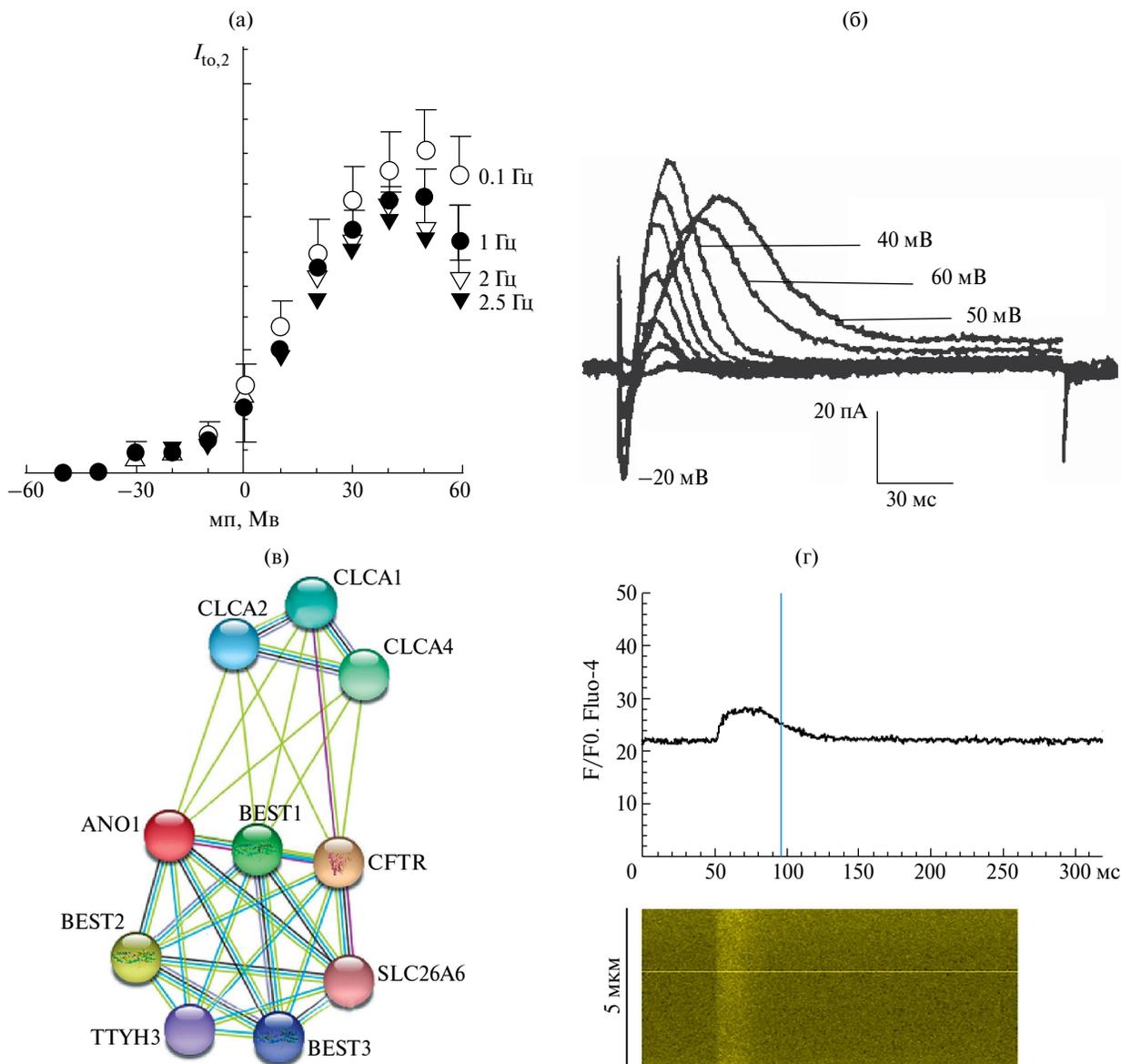
*Роль TMEM16A ( $I_{Cl, Ca}$ ,  $I_{to2}$ ) в кардиомиоцитах*

Кальций-зависимый хлорный ток ( $I_{Cl, Ca}$ ) впервые был выявлен в сердце в начале 1990-х гг. [85]. Известно, что в рабочих кардиомиоцитах и волокнах Пуркинье сердца ранняя (начальная) фаза реполяризации ПД формируется кратковременным (“транзиторным”) выходящим реполяризующим током, обозначаемым  $I_{to}$  (to – transient outward). Ток  $I_{to}$  разделяется на две компоненты –  $I_{to1}$ ,  $I_{to2}$ . Компонента  $I_{to1}$ , является калиевым током, формируемым калиевыми потенциал-чувствительными каналами Kv1.4, Kv4.2, Kv4.3. Компонента  $I_{to2}$  является  $Ca^{2+}$ -зависимым, нечувствительным к 4-аминопиридину (4-AP) хлорным током [84]. В настоящее время считается, что  $I_{to2}$  формируется  $Ca^{2+}$ -чувствительными (или  $Ca^{2+}$ -активируемыми) хлорными каналами CaCC/TMEM16A(B) [46, 86].

Одной из отличительных особенностей нативного  $I_{to2}$  является колоколообразный вид вольт-амперной характеристики: выходящая компонента тока  $I_{to2}$  увеличивается по амплитуде, имея вид классической Гольдмановской кривой, в диапазоне от  $E_{Cl}$  до приблизительно +3...+35 мВ. При значениях мембранного потенциала позитивнее +30 мВ, ток  $I_{to2}$  перестает расти и, наоборот, снижается (см. рис. 3, а) [85]. Степень искажения Гольдмановской характеристики для  $I_{to2}$  является видоспецифичной [81]. Однако вышесказанная степень искажения увеличивается при повышении частоты стимуляции кардиомиоцитов и, вероятно, определяется перегрузкой при мембранной области цитоплазмы кальцием. Для нативного  $I_{to2}$  характерна также инактивация со временем, которая приводит к снижению амплитуды как входящей, так и выходящей компоненты тока от пиковой величины до 10–30% за 30–50 мс (см. рис. 3, б). Следует отметить, что для канала TMEM16 такой тип инактивации не характерен.

В мембране TMEM16A(B) локализован и взаимодействует с множеством белков различного типа: потенциал-управляемыми кальциевыми каналами L- и T-типа (Cav1.2, Cav1.3), бестрофинами (BEST1-3), каналами CFTR, хлор-бикарбонатными обменниками, белками семейства tweety (TTUN1-3), регуляторными субъединицами хлорных каналов CLCA2 [36] (см. рис. 3, в). Вероятно, нативный ионный ток  $I_{to2}$  формируется сложным канальным комплексом, который включает, помимо порообразующей (TMEM16A), ряд дополнительных субъединиц, что и приводит к значительной модификации вольт-амперной характеристики.

Как известно,  $[Ca^{2+}]_i$  в кардиомиоцитах в ходе “кальциевой волны” изменяется



**Рис. 3.** Свойства кальций-зависимого хлорного тока  $I_{to,2}$  канала TMEM16A (Ano1): а – вольт-амперная характеристика  $I_{to,2}$  при разных частотах стимуляции (0,1–2,5 Гц). Приведено с изменениями по Wang Zh. et al., Am. J. Physiol., 268, H1992-H2002, 1995; б – оригинальные записи  $I_{to,2}$  при ступенчатом протоколе изменения поддерживаемого потенциала от –20 до +60 мВ. Приведено с изменениями по Li G-R et al., Am. J. Physiol., 269, H463-H472, 1995; в – взаимодействие кальций-зависимого хлорного канала TMEM16A (ANO1), являющегося молекулярным субстратом  $I_{to,2}$ , с различными белками. ANO1 – кальций-зависимый хлорный канал TMEM16A, CLCA1, CLCA2, CLCA4 – регуляторные субъединицы хлорных каналов, BEST1, BEST2, BEST3 – бестрофины 1–3, CFTR – трансмембранный регулятор муковисцидоза, SLC26A6 – хлор-бикарбонатный обменник, ТТҮН3 – белок семейства tweety; г – репрезентативные примеры спонтанных “кальциевых волн”, регистрируемых в изолированных кардиомиоцитах. Сверху – кривые флюоресценции Fluo-4, полученные в результате усреднения значений по линии сканирования 5 мкм, снизу – псевдоизображения, отражающие изменение уровня флюоресценции во времени (за 300 мс) по линии сканирования (горизонтальная ось – время, вертикальная ось – линия сканирования).

(возрастает и падает) на 4–5 порядков. Так как CaCC/TMEM16A(B) каналы являются  $Ca^{2+}$ -активируемыми, то их проводимость в ходе кардиоцикла меняется многократно. В рабочих кардиомиоцитах и волокнах Пуркинью пик  $[Ca^{2+}]_i$  и максимальное значение ЭДС для  $Cl^-$  почти совпадают

по времени, усиливая выходящую реполяризующую компоненту  $I_{to,2}$ , благодаря чему этот ток формирует выраженную начальную реполяризацию ПД. В ходе реполяризации ПД развивается инактивация CaCC/TMEM16A(B), концентрация  $Ca^{2+}$  снижается и одновременно уменьшается

ЭДС для  $\text{Cl}^-$ . Таким образом, вклад  $I_{\text{to},2}$  в конфигурацию ПД уменьшается (см. рис. 2, д). Блокирование  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$  приводит к подавлению фазы ранней реполяризации ПД и небольшому увеличению ДПД [66, 81]. Соединение 9-АС, блокирующее  $\text{TMEM16A}$ , увеличивает ДПД в миокарде левого желудочка и приводит к увеличению частоты встречаемости ранних и задержанных постдеполяризаций в желудочковых кардиомиоцитах собак, особенно при стимуляции  $\beta$ -АР [28]. Поскольку снижение рН активирует  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ , то  $I_{\text{to},2}$  ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) может предотвращать постдеполяризации при ацидозе, что продемонстрировано в экспериментах с кардиомиоцитами желудочков кролика [35]. Предполагается, что  $I_{\text{Cl,Ca}}$  способствует уменьшению трансмуральной и апико-базальной гетерогенности реполяризации миокарда [33].

Важно, что в рабочем миокарде при МП, близком к ПП ( $-80 \pm 2\text{ мВ}$ , негативнее  $E_{\text{Cl}}$ ), входящая реполяризирующая компонента тока, формируемого  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ , является незначительной, поскольку базальная  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  крайне низка. Поэтому  $I_{\text{to},2}$  ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) не приводит к сдвигу ПП к менее негативным значениям в нормальных условиях. Тем не менее увеличение базальной  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  способствует деполяризирующему действию входящей компоненты тока, формируемого  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ . Поскольку ток, возникающий в физиологических условиях, принято обозначать как  $I_{\text{to},2}$ , то “аномальный”  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимый хлорный ток, формируемый  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$ , предпочтительно обозначать как  $I_{\text{Cl,Ca}}$ .

При кальциевой перегрузке кардиомиоцитов усиление  $I_{\text{Cl,Ca}}$  может приводить к противоположному эффекту в сравнении с тем, что наблюдается в “здоровых” клетках – к индукции триггерной активности и аритмий по типу re-entry [22, 42]. Условия для активации  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$  и формирования деполяризирующей компоненты  $I_{\text{Cl,Ca}}$  при кальциевой перегрузке достигаются в последнюю фазу реполяризации ПД, поскольку именно в этот период электрическое поле способствует перемещению  $\text{Ca}^{2+}$  в  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающий карман. Поэтому  $I_{\text{Cl,Ca}}$  способствует формированию задержанных постдеполяризаций и является компонентой  $I_{\text{DAD}}$  наряду с  $I_{\text{Cl,ir}}$  [69, 82, 87]. Ишемия, вероятно за счет повышения базальной  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ , приводит к значительному усилению  $I_{\text{Cl,Ca}}$ , поскольку подавляется соединением T16Ainh-A01, демонстрирующим значительную избирательность для  $\text{TMEM16A}$  [73]. Усиление окислительного стресса в ишемизированной ткани сердца и повышение уровня  $\text{H}_2\text{O}_2$  также могут приводить к активации  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$  и усилению  $I_{\text{Cl,Ca}}$  [44].

В пейсмекерных кардиомиоцитах, в отличие от рабочих, повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  предшествует

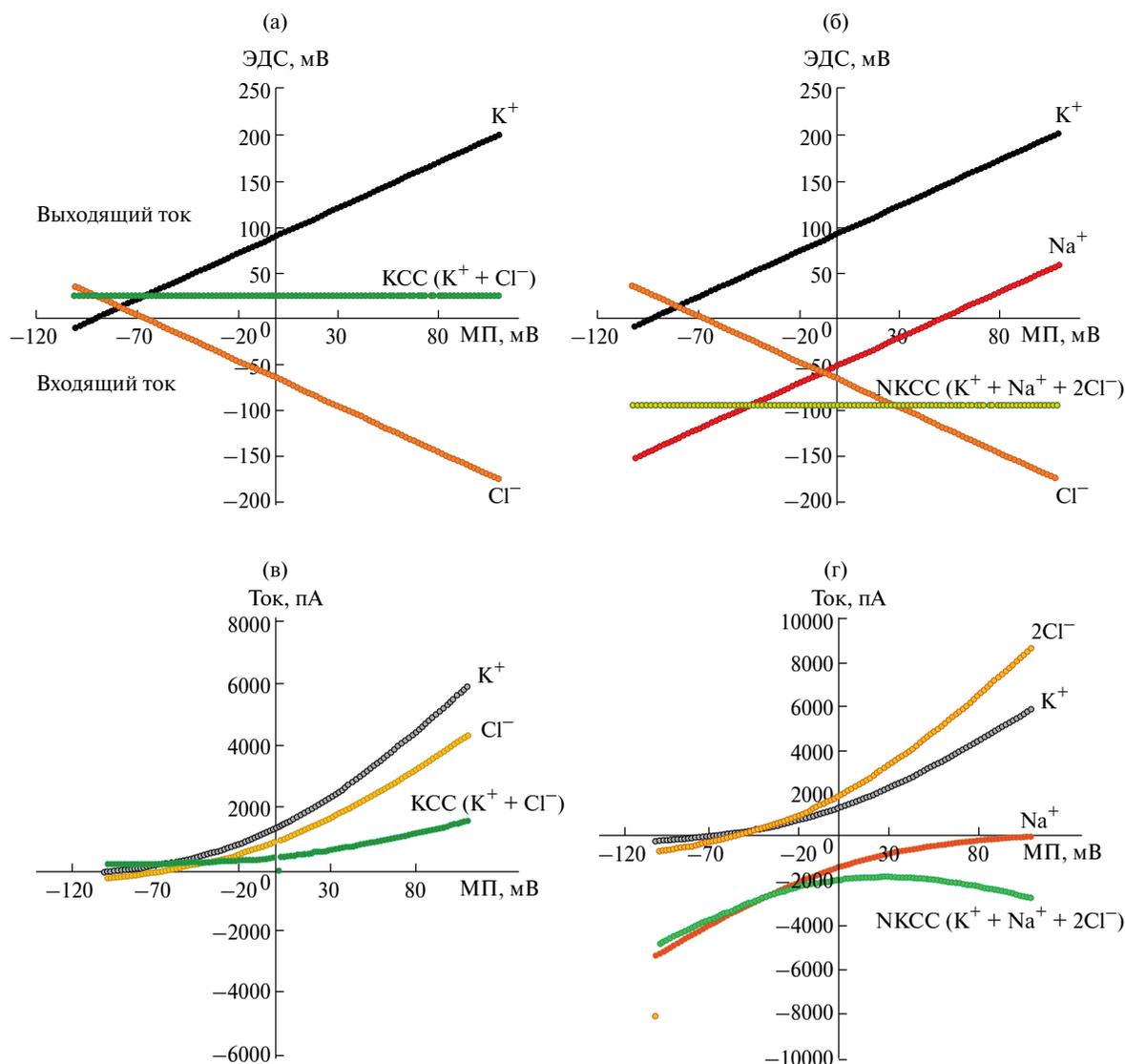
деполяризации и формированию ПД (см. рис. 3, г). Кроме того, рост  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  происходит в период, когда в ходе МДД значения МП негативнее  $E_{\text{Cl}}$ . В таком случае активация  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$  будет приводить к усилению входящей компоненты  $I_{\text{to},2}$  ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) и способствовать деполяризации, ускорению конечной фазы МДД и усилению автоматии САУ. С другой стороны, медленный спад  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  (см. рис. 2, е) в пейсмекерных кардиомиоцитах может приводить к большему влиянию  $I_{\text{to},2}$  ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) на конфигурацию ПД в САУ, чем в миокарде предсердий желудочков. Таким образом, роль каналов  $\text{CaCC}/\text{TMEM16A(B)}$  и тока  $I_{\text{to},2}$  ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) может существенно различаться для пейсмекерной и рабочей ткани сердца.

#### *Функциональная роль хлорных транспортеров и обменников кардиомиоцитов*

Как указано выше,  $[\text{Cl}^-]_i$  в кардиомиоцитах определяется уровнем и соотношением экспрессии переносчиков НКСС и КСС [96], которые разнонаправленно влияют на  $[\text{Cl}^-]_i$ . Четко показано, что блокирование НКСС приводит к снижению  $[\text{Cl}^-]_i$ , тогда как подавление активности КСС приводит к увеличению  $[\text{Cl}^-]_i$  как в кардиомиоцитах, так и в других тканях [61]. Изменение уровня экспрессии и/или работы переносчиков хлора обязательно приводит к изменению  $E_{\text{Cl}}$  и хлорных токов, а также оказывает существенное влияние на биоэлектрическую активность кардиомиоцитов разных отделов сердца. Баланс активности НКСС и КСС и “установочная точка” для  $[\text{Cl}^-]_i$  изменяются в миокарде в ходе онтогенеза и формировании патологий.

#### *Роль КСС в кардиомиоцитах*

Молекулы трансмембранных переносчиков КСС устроены таким образом, что посредством них ионы могут перемещаться как в направлении внеклеточной, так и в направлении внутриклеточной среды. Тем не менее, в кардиомиоцитах при  $E_{\text{к}} = -90\text{ мВ}$  для КСС отсутствует потенциал реверсии, а ЭДС при всех значениях мембранного потенциала и практически любых значениях  $[\text{Cl}^-]_i$  (т. е. при  $E_{\text{Cl}} = -66...40\text{ мВ}$ ) “заставляет” пару ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  перемещаться из цитоплазмы во внеклеточную среду (см. рис. 4, а). Таким образом, котранспортеры КСС способствуют снижению  $[\text{Cl}^-]_i$  при любых значениях МП. Как указано выше, КСС является электронейтральным переносчиком – суммарный переносимый им заряд и трансмембранный ток является нулевым. Однако интенсивность переноса пары ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  (сумма разнонаправленных токов) во внеклеточную среду посредством КСС будет тем больше, чем положительнее мембранный потенциал (см. рис. 4, в). Иными словами, выведение анионов хлора из



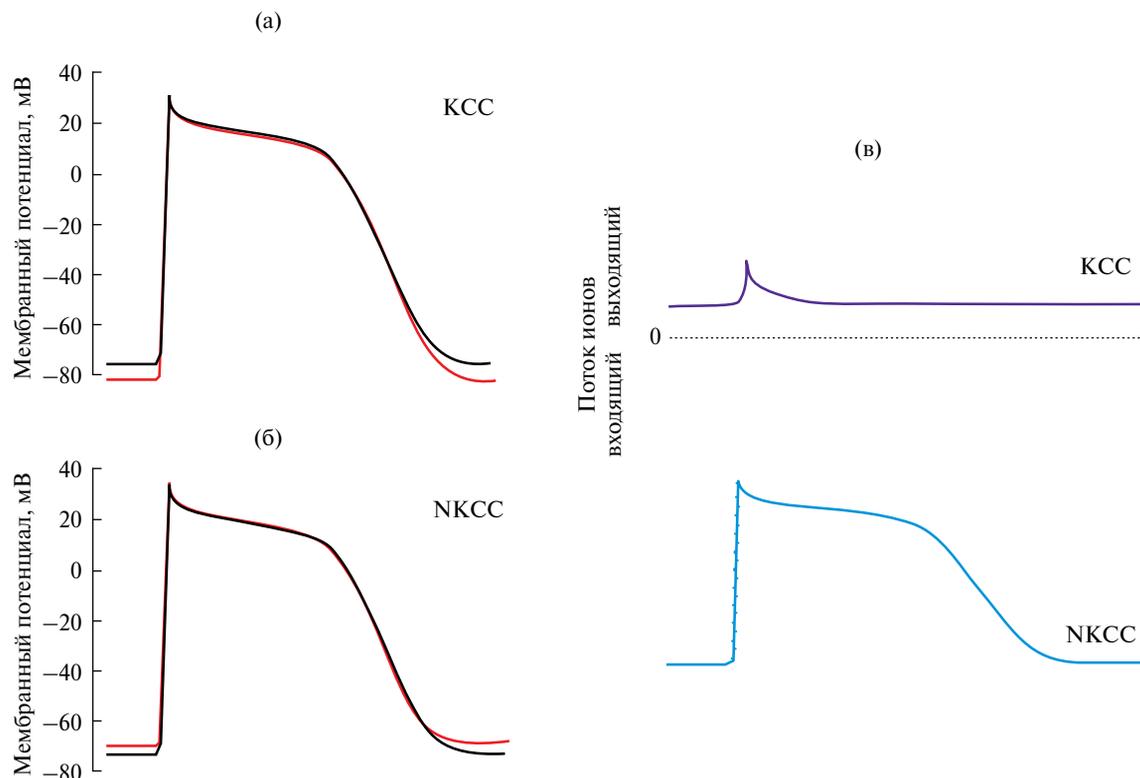
**Рис. 4.** Электрические характеристики хлор-катионных котранспортеров: а – зависимость электродвижущей силы (ЭДС) от мембранного потенциала (МП) для ионов калия, хлора и котранспортера КСС; б – зависимость электродвижущей силы (ЭДС) от мембранного потенциала (МП) для ионов натрия, калия, хлора и котранспортера НКСС; в – вольт-амперная характеристика калиевого и хлорного токов, а также суммарного тока котранспортера КСС; г – вольт-амперная характеристика натриевого, калиевого и хлорного токов, а также суммарного тока котранспортера НКСС.

цитоплазмы происходит эффективнее не при ПП, а во время деполяризации кардиомиоцитов.

#### Роль НКСС в кардиомиоцитах

Как и в случае с КСС, трансмембранный импорт ионов  $Na^+$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  посредством НКСС может осуществляться в двух направлениях. Однако как и для КСС, в кардиомиоцитах для НКСС отсутствует потенциал реверсии, и ЭДС при всех значениях МП и любых значениях  $[Cl^-]_i$  “заставляет” ионы  $Na^+$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  перемещаться из внеклеточной во внутриклеточную среду (Рис. 4. б). Таким образом, НКСС всегда способствует увеличению  $[Cl^-]_i$ .

Несмотря на электронейтральность, интенсивность перемещения (“поток”)  $Na^+$ ,  $K^+$  и  $Cl^-$  во внеклеточную среду посредством НКСС зависит от МП – эта зависимость колоколообразная. Наименьший “поток” наблюдается в диапазоне 0...+30 мВ, а при больших положительных и отрицательных значениях МП “поток” увеличивается (см. рис. 5. г). Таким образом, в противоположность КСС, поступление  $Cl^-$  в цитоплазму кардиомиоцитов, опосредуемое НКСС, будет наибольшим при МП, близком к ПП, а наименьшим – при МП, близком к значениям, соответствующим овершуту ПД (Рис. 5. г).



**Рис. 5.** Эффекты активации хлор-катионных котранспортеров на электрическую активность рабочего миокарда: а – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцита рабочего миокарда при активации котранспортера ионов хлора и калия КСС (красный цвет, с учетом активности КСС) по сравнению с контролем (черный цвет, без учета активности КСС); б – изменение конфигурации потенциала действия кардиомиоцита рабочего миокарда при активации котранспортера ионов хлора и калия NKCC (красный цвет, с учетом активности NKCC) по сравнению с контролем (черный цвет, без учета активности NKCC); в – изменение интенсивности потока ионов хлора через котранспортеры КСС и NKCC в зависимости от мембранного потенциала.

Уровень  $[Cl^-]_i$  определяется не только соотношением экспрессии КСС/NKCC, но и, при прочих равных условиях, соотношением продолжительности пребывания кардиомиоцитов в покое и деполяризованном состоянии, а также уровнем ПП. Интенсивность переноса хлора КСС и NKCC в рабочих и пейсмекерных кардиомиоцитах будет разной. Работа КСС и NKCC в этих двух типах клеток даже при одинаковом уровне экспрессии будет приводить к установлению различных значений  $[Cl^-]_i$  и  $E_{Cl}$  (см. рис. 5, а–б).

Изменения экспрессии и функционирования NKCC1 наблюдаются при патологиях сердечно-сосудистой системы. У животных, нокаутных по NKCC1, наблюдается сократительная дисфункция кардиомиоцитов [63]. В экспериментальных моделях сердечной недостаточности наблюдается двукратное увеличение экспрессии NKCC1 в изолированных кардиомиоцитах [3]. Важно, что фармакологические соединения, влияющие на NKCC и используемые для терапии артериальной гипертензии, оказывают эффекты не только в нефронах. Например, петлевые диуретики фуросемид и буметанид приводят к гиперполяризации ГМК стенки

сосудов [61], а также вызывают снижение  $[Cl^-]_i$  в ГМК и, возможно, в кардиомиоцитах [5, 61].

В литературе имеются противоречивые сведения касательно регуляции NKCC1 факторами вегетативной нервной системы. В частности, в некоторых работах показано, что стимуляция  $\alpha_1$ -АР приводит к активации NKCC1, в других же работах показан обратный эффект – подавление активности NKCC1 [4, 5, 57]. Однако установлено, что симпатическая/адренергическая стимуляция, опосредованная как  $\alpha$ - так и  $\beta$ -АР, приводит к реципрокному изменению активности NKCC и КСС. Таким образом, активация адренорецепторов синергично влияет на  $E_{Cl}$  и  $[Cl^-]_i$ . Важно отметить, что адренергическая регуляция NKCC и КСС, видимо, не опосредуется классическими серин-треониновыми киназами (PKA, PKC).

#### *Роль $Cl^-/HCO_3^-$ -обменников в кардиомиоцитах*

Считается, что основной функцией  $Cl^-/HCO_3^-$ -обменников в кардиомиоцитах является предотвращение повышения внутриклеточного pH [52, 53]. Хлор-бикарбонатные обменники

выводят во внеклеточную среду  $\text{HCO}_3^-$  за счет поступления по градиенту концентрации в цитоплазму ионов  $\text{Cl}^-$ . В миокарде и в кардиомиоцитах  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменники практически всегда способствуют увеличению  $[\text{Cl}^-]_i$  и сдвигу  $E_{\text{Cl}}$  в сторону менее отрицательных значений. Таким образом, уровень экспрессии и функционирование  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменников, наряду с КСС и НКСС1, будет определять  $[\text{Cl}^-]_i$  и посредством  $I_{\text{Cl}}$  может влиять на автоматию пейсмекерных клеток САУ.

Хлор-бикарбонатные обменники функционально сопряжены с парой КСС/НКСС. Показано, что при подавлении работы обменника АЕЗ происходит увеличение активности НКСС1, компенсация  $[\text{Cl}^-]_i$  и рост  $[\text{Na}^+]_i$ , что приводит к изменению биоэлектрических свойств кардиомиоцитов [63].

Изменение активности и экспрессии хлор-бикарбонатных обменников АЕ1-3 сопряжено с рядом сердечных патологий. Показано, что у крыс с гипертрофией сердца наблюдаются усиление работы  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменника [25] и увеличение экспрессии АЕ3β [10, 11]. У мышей, нокаутных по АЕ3, наблюдается снижение отношения массы сердца к массе тела по сравнению с мышами дикого типа. Ингибиторы карбоангидразы приводят к снижению выраженности гипертрофии, т. е. изменение активности АЕ3 играет важную роль в патогенезе гипертрофии миокарда [2, 13].

Предполагается, что в отличие от АЕ1-3 обменники SLC26A3 и SLC26A6 не являются электронейтральными. Для SLC26A6 характерна стехиометрия  $1\text{Cl}^-/n\text{HCO}_3^-$  ( $n \geq 2$ ), в то время как для SLC26A3 – наоборот,  $2\text{Cl}^-/1\text{HCO}_3^-$ . Таким образом, SLC26A6 генерирует деполяризующий ток, и может, например, облегчать автоматию САУ за счет деполяризации и повышения  $[\text{Cl}^-]_i$ . Обменник SLC26A3 генерирует гиперполяризующий ток. Физиологическая значимость этого тока не ясна, поскольку экспрессия SLC26A3 в кардиомиоцитах низка [47, 77].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно накопленным данным, хлорные каналы и хлорные переносчики принципиально важны для нормального функционирования пейсмекера, проводящей системы и сократительного миокарда сердца. На основе имеющихся к настоящему моменту сведений о структуре и свойствах хлорных каналов и обменников можно заключить, что трансмембранный перенос ионов хлора является крайне сложно и тонко регулируемым процессом в кардиомиоцитах, который оказывает разнонаправленное влияние на электрофизиологические свойства отделов сердца и его ритмоводителя. Как показано выше, хлорные токи могут приводить к усилению или ослаблению автоматики доминантного пейсмекера сердца, облегчать или подавлять

проведение возбуждения в АВУ в определенных условиях, оказывать влияние на сократимость рабочего миокарда, регулируя конфигурацию потенциалов действия и распространение возбуждения в желудочковом миокарде. Тем не менее большое количество молекул, участвующих в трансмембранном переносе хлора и множественность механизмов регуляции уровня цитоплазматического уровня ионов хлора делают крайне сложным исследование роли хлора в формировании электрической активности кардиомиоцитов, а также в организованной и скоординированной работе камер сердца. В дополнение, множественность путей регуляции функционирования белковых мембранных комплексов, демонстрирующих свойства хлорных каналов, ограничивает изучение их вклада в физиологическую адаптацию кардиомиоцитов либо их роли в патологической перестройке миокарда.

В итоге, несмотря на целый спектр установленных эффектов, в значительной степени роль баланса хлора и хлорной проводимости в электрофизиологии сердца остается малоисследованной. Например, данные об эффектах механочувствительного трансмембранного хлорного тока, формируемого каналами LRRC8x ( $I_{\text{Cl,swell}}$ ) в миокарде, как в нормальных, так и в патологических условиях остаются противоречивыми. Кроме того, сложность и обилие механизмов, участвующих в регуляции работы CaCC/TMEM16A в доминантном ритмоводителе и в рабочем миокарде сердца, затрудняет изучение влияния кальций-зависимой хлорной проводимости ( $I_{\text{Cl,Ca}}$ ) на биоэлектрическую активность миокарда. Важным направлением является определение уровня и соотношения экспрессии основных обменников и котранспортеров анионов хлора в миокарде, так как баланс НКСС, КСС и  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -антипортеров, в конечном итоге, определяет степень и тип влияния ионов хлора на электрическую активность пейсмекерного и рабочего миокарда.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00189).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Akita H., Yoshie S., Ishida T., Takeishi Y., Hazama A. Negative chronotropic and inotropic effects of lubiprostone on iPS cell-derived cardiomyocytes via activation of CFTR // BMC Complement Med. Ther. 2020. V. 20. № 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02923-6>
2. Alvarez B.V., Fujinaga J., Casey J.R. Molecular basis for angiotensin II-induced increase of chloride/bicarbonate exchange in the myocardium // Circ.

- Res. 2001. V. 89. № 12. P. 1246–1253.  
<https://doi.org/10.1161/hh2401.101907>
3. *Andersen G.O., Oie E., Vinge L.E. et al.* Increased expression and function of the myocardial Na-K-2Cl cotransporter in failing rat hearts // *Basic Res. Cardiol.* 2006. V. 101. № 6. P. 471–478.  
<https://doi.org/10.1007/s00395-006-0604-5>
  4. *Andersen G.O., Skomedal T., Enger M. et al.*  $\alpha$ 1-AR-mediated activation of NKCC in rat cardiomyocytes involves ERK-dependent phosphorylation of the cotransporter // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2004. V. 286. № 55. P. 1354–1360.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00549.2003>
  5. *Anfinogenova Y.J., Baskakov M.B., Kovalev I.V. et al.* Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: Role of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup> cotransport, intracellular Cl<sup>-</sup> and L-type Ca<sup>2+</sup> channels // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2004. V. 449. № 1. P. 42–55.  
<https://doi.org/10.1007/s00424-004-1316-z>
  6. *Britton F.C., Hatton W.J., Rossow C.F. et al.* Molecular distribution of volume-regulated chloride channels (ClC-2 and ClC-3) in cardiac tissues // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2000. V. 279. № 48. P. 2225–2233.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.2000.279.5.h2225>
  7. *Britton F.C., Wang G.L., Huang Z.M. et al.* Functional characterization of novel alternatively spliced ClC-2 chloride channel variants in the heart // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 27. P. 25871–25880.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M502826200>
  8. *Brown H.F., Giles W., Noble S.J.* Membrane currents underlying activity in frog sinus venosus // *J. Physiol.* 1977. V. 271. № 3. P. 783–816.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1977.sp012026>
  9. *Chen H., Liu L.L., Ye L.L. et al.* Targeted inactivation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel gene prevents ischemic preconditioning in isolated mouse heart // *Circulation.* 2004. V. 110. № 6. P. 700–704.  
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138110.84758.BB>
  10. *Chiappe De Cingolani G., Morgan P., Mundiña-Weilenmann C. et al.* Hyperactivity and altered mRNA isoform expression of the Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> anion-exchanger in the hypertrophied myocardium // *Cardiovasc. Res.* 2001. V. 51, № 1. P. 71–79.  
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(01\)00276-0](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(01)00276-0)
  11. *Cingolani H.E., Chiappe G.E., Ennis I.L. et al.* Influence of Na<sup>+</sup>-Independent Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Exchange on the Slow Force Response to Myocardial Stretch // *Circ. Res.* 2003. V. 93. № 11. P. 1082–1088.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000102408.25664.01>
  12. *Cohn J.A., Nairn A.C., Marino C.R., Melhus O., Kole J.* Characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in a colonocyte cell line // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. № 6. P. 2340–2344.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.89.6.2340>
  13. *Counillon L., Pouysségur J.* The expanding family of eucaryotic Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchangers // *J. of Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 1. P. 1–4.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.275.1.1>
  14. *Csanády L., Vergani P., Gadsby D.C.* Structure, gating, and regulation of the CFTR anion channel // *Physiol. Rev.* 2019. V. 99. № 1. P. 707–738.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00007.2018>
  15. *Cuppoletti J., Tewari K.P., Sherry A.M., Ferrante C.J., Malinowska D.H.* Sites of protein kinase A activation of the human ClC-2 Cl<sup>-</sup> channel // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 21. P. 21849–56.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M312567200>
  16. *Duan D.* Phenomics of cardiac chloride channels: The systematic study of chloride channel function in the heart // *J. of Physiol.* 2009. V. 587. P. 2163–2177.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.165860>
  17. *Duan D., Hume J.R., Nattel S.* Evidence that outwardly rectifying Cl<sup>-</sup> channels underlie volume-regulated Cl<sup>-</sup> currents in heart // *Circ. Res.* 1997. V. 80. № 1. P. 103–113.  
<https://doi.org/10.1161/01.RES.80.1.103>
  18. *Duan D., Ye L., Britton F., Horowitz B., Hume J.R.* A novel anionic inward rectifier in native cardiac myocytes. // *Circ. Res.* 2000. V. 86. № 4. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1161/01.res.86.4.e63>
  19. *Duan D., Ye L., Britton F. et al.* Purinoceptor-coupled Cl<sup>-</sup> channels in mouse heart: A novel, alternative pathway for CFTR regulation // *J. Physiol.* 1999. V. 521. № 1. P. 43–56.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.00043.x>
  20. *Duan D.D.* The ClC-3 chloride channels in cardiovascular disease // *Acta Pharmacol. Sin.* 2011. V. 32. № 6. P. 675–684.  
<https://doi.org/10.1038/aps.2011.30>
  21. *Duan D.D.* Phenomics of cardiac chloride channels // *Compr. Physiol.* 2013. V. 3. № 2. P. 667–692.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.165860>
  22. *Duan D.Y., Liu L.L.H., Bozeat N. et al.* Functional role of anion channels in cardiac diseases // *Acta*

- Pharm. Sinica. 2005. V. 26. № 3. P. 265–287.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00061.x>
23. *Duran C., Thompson C.H., Xiao Q., Hartzell H.C.* Chloride channels: Often enigmatic, rarely predictable // *Annu. Rev. Physiol.* 2009. V. 72. P. 95–121.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135811>
  24. *Egorov Y.V., Lang D., Tyan L. et al.* Caveolae-Mediated Activation of Mechanosensitive Chloride Channels in Pulmonary Veins Triggers Atrial Arrhythmogenesis // *J. Am. Heart Assoc.* 2019. V. 8. № 20. P. 1–41.  
<https://doi.org/10.1161/JAHA.119.012748>
  25. *Ennis I.L., Alvarez B.V., Camili6n De Hurtado M.C., Cingolani H.E.* Enalapril induces regression of cardiac hypertrophy and normalization of pH(i) regulatory mechanisms // *Hypertension.* 1998. V. 31. № 4. P. 961–967.  
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.31.4.961>
  26. *Frace A.M., Maruoka F., Noma A.* Control of the hyperpolarization-activated cation current by external anions in rabbit sino-atrial node cells. // *J. Physiol.* 1992. V. 453. № 1. P. 307–318.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019230>
  27. *Fritsch J., Edelman A.* Modulation of the hyperpolarization-activated Cl<sup>-</sup> current in human intestinal T84 epithelial cells by phosphorylation // *J. Physiol.* 1996. V. 490. № 1. P. 115–128.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021130>
  28. *F6l6p L., Fi6k E., Szentandr6ssy N. et al.* The role of transmembrane chloride current in afterdepolarisations in canine ventricular cardiomyocytes // *Gen. Physiol. Biophys.* 2003. V. 22. № 3. P. 341–353.
  29. *Gao Z., Sun H.Y., Lau C.P., Chin-Wan Fung P., Li G.R.* Evidence for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride current in swine ventricular myocytes // *J Mol. Cell Cardiol.* 2007. V. 42. № 1. P. 98–105.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.10.002>
  30. *Han Y.E., Kwon J., Won J. et al.* Tweety-homolog (Ttyh) family encodes the pore-forming subunits of the swelling-dependent volume-regulated anion channel (VRAC<sub>swell</sub>) in the brain // *Exp. Neurobiol.* 2019. V. 28. № 2. P. 183–215.  
<https://doi.org/10.5607/en.2019.28.2.183>
  31. *Hansen T.H., Yan Y., Ahlberg G. et al.* A Novel Loss-of-Function Variant in the Chloride Ion Channel Gene *Clcn2* Associates with Atrial Fibrillation // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 1–10.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58475-9>
  32. *Hart P., Warth J.D., Levesque P.C. et al.* Cystic fibrosis gene encodes a cAMP-dependent chloride channel in heart // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. № 13. P. 6343–6348.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.13.6343>
  33. *Hegyi B., Horv6th B., V6czi K. et al.* Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> current is antiarrhythmic by reducing both spatial and temporal heterogeneity of cardiac repolarization // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2017. V. 109. P. 27–37.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.06.014>
  34. *Hiraoka M., Kawano S., Hirano Y., Furukawa T.* Role of cardiac chloride currents in changes in action potential characteristics and arrhythmias // *Cardiovasc. Res.* 1998. V. 40. № 1. P. 23–33.  
[https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00173-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00173-4)
  35. *Hirayama Y., Kuruma A., Hiraoka M., Kawano S.* Calcium-activated Cl<sup>-</sup> current is enhanced by acidosis and contributes to the shortening of action potential duration in rabbit ventricular myocytes // *Jpn. J. Physiol.* 2002. V. 52. № 3. P. 293–300.  
<https://doi.org/10.2170/jjphysiol.52.293>
  36. *Horv6th B., V6czi K., Hegyi B. et al.* Sarcolemmal Ca<sup>2+</sup>-entry through L-type Ca<sup>2+</sup> channels controls the profile of Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> current in canine ventricular myocytes // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2016. V. 97. P. 125–139.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.05.006>
  37. *Huang Z.M., Prasad C., Britton F.C. et al.* Functional role of CLC-2 chloride inward rectifier channels in cardiac sinoatrial nodal pacemaker cells // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2009. V. 47. № 1. P. 121–132.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.04.008>
  38. *Hume J.R., Duan D., Collier M.L., Yamazaki J., Horowitz B.* Anion transport in heart // *Physiol. Rev.* 2000. V. 80. № 1. P. 31–81.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.1.31>
  39. *Hume J.R., Hart P., Levesque P.C. et al.* Molecular physiology of CFTR Cl<sup>-</sup> channels in heart // *Jpn. J. Physiol.* 1994. V. 44. № 2.
  40. *Hutter O.F., Noble D.* Anion conductance of cardiac muscle // *J. Physiol.* 1961. V. 157. № 2. P. 335–350.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1961.sp006726>
  41. *James A.F.* Enigmatic variations: The many facets of CFTR function in the heart // *Acta Physiol.* 2020. V. 230. № 1. P. 5–6.  
<https://doi.org/10.1111/apha.13525>
  42. *January C.T., Fozzard H.A.* Delayed afterdepolarizations in heart muscle: Mechanisms and relevance // *Pharmacol. Rev.* 1988. V. 40. № 3.
  43. *Jentsch T.J., Pusch M.* CLC chloride channels and transporters: Structure, function, physiology,

- and disease // *Physiol. Rev.* 2018. V. 98. № 3. P. 1493–1590.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2017>
44. *Jeulin C., Guadagnini R., Marano F.* Oxidant stress stimulates Ca<sup>2+</sup>-activated chloride channels in the apical activated membrane of cultured nonciliated human nasal epithelial cells // *Am. J. Physiol. – Lung Cell Mol. Physiol.* 2005. V. 289. № 33. P. 636–646.  
<https://doi.org/10.1152/ajplung.00351.2004>
45. *Jiang K., Jiao S., Vitko M. et al.* The impact of Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Disruption on cardiac function and stress response // *J. Cyst. Fibros.* 2016. V. 15. № 1. P. 34–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.06.003>
46. *Jin X., Shah S., Liu Y. et al.* Activation of the Cl–Channel ANO1 by localized calcium signals in nociceptive sensory neurons requires coupling with the IP3 receptor // *Sci. Signal.* 2013. V. 6. № 290.  
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2004184>
47. *Kim H.J., Myers R., Sihn C.R. et al.* Slc26a6 functions as an electrogenic Cl/HCO<sub>3</sub> exchanger in cardiac myocytes // *Cardiovasc. Res.* 2013. V. 100. № 3. P. 383–391.  
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvt195>
48. *Komukai K., Brette F., Orchard C.H.* Electrophysiological response of rat atrial myocytes to acidosis // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2002. V. 283. № 52–2. P. 715–724.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01000.2001>
49. *Kunzelmann K.* CFTR: Interacting with everything? // *News Physiol. Sci.* 2001. V. 16. № 4. P. 167–170. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.2001.16.4.167>
50. *Kuzumoto M., Takeuchi A., Nakai H. et al.* Simulation analysis of intracellular Na<sup>+</sup> and Cl–homeostasis during  $\beta$ 1-adrenergic stimulation of cardiac myocyte // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2008. V. 96. № 1–3. P. 171–186.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2007.07.005>
51. *Lader A.S., Wang Y., Jackson G.R., Borkan S.C., Cantiello H.F.* cAMP-activated anion conductance is associated with expression of CFTR in neonatal mouse cardiac myocytes // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 2000. V. 278. № 47–2. P. 436–440. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.278.2.c436>
52. *Lai Z.F., Nishi K.* Intracellular chloride activity increases in guinea pig ventricular muscle during simulated ischemia // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 1998. V. 44. № 5. P. 1613–1619.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1998.275.5.h1613>
53. *Leem C.H., Lagadic-Gossmann D., Vaughan-Jones R.D.* Characterization of intracellular pH regulation in the guinea-pig ventricular myocyte // *J. Physiol.* 1999. V. 517. № 1. P. 159–180.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.0159z.x>
54. *Li B., Hoel C.M., Brohawn S.G.* Structures of tweety homolog proteins TTYH2 and TTYH3 reveal a Ca<sup>2+</sup>-dependent switch from intra- to intermembrane dimerization // *Nat. Commun.* 2021. V. 12. № 1. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-27283-8>
55. *Li C., Huang D., Tang J. et al.* ClC-3 chloride channel is involved in isoprenaline-induced cardiac hypertrophy // *Gene.* 2018. V. 642. P. 335–342.  
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.11.045>
56. *Litviňuková M., Talavera-López C., Maatz H. et al.* Cells of the adult human heart // *Nature.* 2020. V. 588. № 7838. P. 466–472.  
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2797-4>
57. *Meor Azlan N.F., Zhang J.* Role of the Cation-Chloride-Cotransporters in Cardiovascular Disease // *Cells.* 2020. V. 9. № 10. P. 1–21.  
<https://doi.org/10.3390/cells9102293>
58. *Miller A.N., Vaisey G., Long S.B.* Molecular mechanisms of gating in the calcium-activated chloride channel bestrophin // *Elife.* 2019. V. 8. P. 1–17.  
<https://doi.org/10.7554/eLife.43231>
59. *Modi A.D., Khan A.N., Cheng W.Y.E., Modi D.M.* KCCs, NKCCs, and NCC: Potential targets for cardiovascular therapeutics? A comprehensive review of cell and region specific expression and function // *Acta Histochem.* 2023. V. 125. № 4. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2023.152045>
60. *Okada Y., Sabirov R.Z., Merzlyak P.G., Numata T., Sato-Numata K.* Properties, Structures, and Physiological Roles of Three Types of Anion Channels Molecularly Identified in the 2010's // *Front. Physiol.* 2021. V. 12. P. 1–12.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2021.805148>
61. *Orlov S.N., Koltsova S.V., Kapilevich L.V., Dulin N.O., Gusakova S.V.* Cation-chloride cotransporters: Regulation, physiological significance, and role in pathogenesis of arterial hypertension // *Biochem.* 2014. V. 79. № 13. P. 1546–1561.  
<https://doi.org/10.1134/S0006297914130070>
62. *Owji A.P., Kittredge A., Zhang Y., Yang T.* Structure and Function of the Bestrophin family of calcium-activated chloride channels // *Channels.* 2021. V. 15. № 1. P. 604–623.  
<https://doi.org/10.1080/19336950.2021.1981625>

63. Prasad V., Bodi I., Meyer J.W. et al. Impaired cardiac contractility in mice lacking both the AE3 Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> exchanger and the NKCC1 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter: Effects on Ca<sup>2+</sup> handling and protein phosphatases // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. № 46. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803706200>
64. Ruiz Petrich E., Ponce Zumino A., Schanne O.F. Early action potential shortening in hypoxic hearts: Role of chloride current(s) mediated by catecholamine release // *J. Mol. Cell Cardiol.* 1996. V. 28. № 2. P. 279–290. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0026>
65. Scherer C., Linz W., Busch A., Steinmeyer K. Gene expression profiles of CLC chloride channels in animal models with different cardiovascular diseases // *Cell Physiol. Biochem.* 2001. V. 11. № 6. P. 321–330. <https://doi.org/10.1159/000047818>
66. Sellers Z.M., De Arcangelis V., Xiang Y., Best P.M. Cardiomyocytes with disrupted CFTR function require CaMKII and Ca<sup>2+</sup>-activated Cl<sup>-</sup> channel activity to maintain contraction rate // *J. Physiol.* 2010. V. 588. № 13. P. 2417–2429. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.188334>
67. Seyama I. Characteristics of the anion channel in the sino-atrial node cell of the rabbit. // *J. Physiol.* 1979. V. 294. № 1. P. 447–460. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012940>
68. Sherry A.M., Stroffekova K., Knapp L.M. et al. Characterization of the human pH<sup>-</sup> and PKA-activated ClC-2G(2 $\alpha$ ) Cl<sup>-</sup> channel // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 1997. V. 273. № 42–2. P. 384–393. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.2.c384>
69. Sziget G., Rusznák Z., Kovács L., Papp Z. Calcium-activated transient membrane currents are carried mainly by chloride ions in isolated atrial, ventricular and Purkinje cells of rabbit heart // *Exp. Physiol.* 1998. V. 83. № 2. P. 137–153. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1998.sp004097>
70. Takagi D., Okamoto Y., Ohba T., Yamamoto H., Ono K. Comparative study of hyperpolarization-activated currents in pulmonary vein cardiomyocytes isolated from rat, guinea pig, and rabbit // *J. Physiol. Sci.* 2020. V. 70. № 1. P. 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00736-3>
71. Tilly B.C., Bezstarosti K., Boomaars W.E.M. et al. Expression and regulation of chloride channels in neonatal rat cardiomyocytes // *Mol. Cell Biochem.* 1996. V. 157. № 1–2. P. 129–135. <https://doi.org/10.1007/bf00227891>
72. Uramoto H., Takahashi N., Dutta A.K. et al. Ischemia-Induced Enhancement of CFTR Expression on the Plasma Membrane in Neonatal Rat Ventricular Myocytes // *Jpn. J. Physiol.* 2003. V. 53. № 5. P. 357–365. <https://doi.org/10.2170/jjphysiol.53.357>
73. Valverde C.A., Kornyejev D., Ferreira M. et al. Transient Ca<sup>2+</sup> depletion of the sarcoplasmic reticulum at the onset of reperfusion // *Cardiovasc. Res.* 2010. V. 85. № 4. P. 671–680. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvp371>
74. Vandenberg J.I., Bett G.C.L., Powell T. Contribution of a swelling-activated chloride current to changes in the cardiac action potential // *Am. J. Physiol. – Cell Physiol.* 1997. V. 273. № 42–2. P. 541–547. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.2.c541>
75. Voronina Y.A., Fedorov A.V., Chelombitko M.A., Piunova U.E., Kuzmin V.S.  $\alpha$ 1-Adrenergic Receptors Control the Activity of Sinoatrial Node by Modulating Transmembrane Transport of Chloride Anions // *Biochem. Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.* 2023. V. 17. № 4. P. 39–50. <https://doi.org/10.1134/S1990747823070061>
76. Wang H.S. Critical role of bicarbonate and bicarbonate transporters in cardiac function // *World J. Biol. Chem.* 2014. V. 5. № 3. P. 334. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v5.i3.334>
77. Wang J., Wang W., Wang H., Tuo B. Physiological and Pathological Functions of SLC26A6 // *Front. Med.* 2020. V. 7. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.618256>
78. Warth J.D., Collier M.L., Hart P. et al. CFTR chloride channels in human and simian heart // *Cardiovasc Res.* 1996. V. 31. № 4. P. 615–624. [https://doi.org/10.1016/0008-6363\(95\)00245-6](https://doi.org/10.1016/0008-6363(95)00245-6)
79. Xiang S.Y., Ye L.L., Duan L.L.M. et al. Characterization of a critical role for CFTR chloride channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury // *Acta Pharmacol Sin.* 2011. V. 32. № 6. P. 824–833. <https://doi.org/10.1038/aps.2011.61>
80. Xiong D., Heyman N.S., Airey J. et al. Cardiac-specific, inducible ClC-3 gene deletion eliminates native volume-sensitive chloride channels and produces myocardial hypertrophy in adult mice // *J. Mol. Cell Cardiol.* 2010. V. 48. № 1. P. 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.07.003>
81. Xu Y., Dong P.H., Zhang Z., Ahmmed G.U., Chiamvimonvat N. Presence of a calcium-activated chloride current in mouse ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 2002. V. 283. № 52–1. P. 302–314. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00044.2002>

82. Ye Z., Wu M.M., Wang C.Y. et al. Characterization of cardiac anoctamin1 Ca<sup>2+</sup>-activated chloride channels and functional role in ischemia-induced arrhythmias // *J. Cell Physiol.* 2015. V. 230. № 2. P. 337–346.  
<https://doi.org/10.1002/jcp.24709>
83. Yu Y., Ye L., Li Y.G., Burkin D.J., Duan D.D. Heart-specific overexpression of the human short CLC-3 chloride channel isoform limits myocardial ischemia-induced ERP and QT prolongation // *Int. J. Cardiol.* 2016. V. 214. P. 218–224.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.03.191>
84. Zygmunt A.C. Intracellular calcium activates a chloride current in canine ventricular myocytes // *Am. J. Physiol. – Hear. Circ. Physiol.* 1994. V. 267. № 36–5. P. 1984–1995.  
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.267.5.h1984>
85. Zygmunt A.C., Gibbons W.R. Calcium-activated chloride current in rabbit ventricular myocytes // *Circ Res.* 1991. V. 68. № 2. P. 424–437.  
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.1998.sp004097>
86. Zygmunt A.C., Gibbons W.R. Properties of the calcium-activated chloride current in heart // *J. Gen Physiol.* 1992. V. 99. № 3. P. 391–414.  
<https://doi.org/10.1085/jgp.99.3.391>
87. Zygmunt A.C., Goodrow R.J., Weigel C.M. et al. INaCa and ICl(Ca) contribute to isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations in midmyocardial cells INaCa and ICl(Ca) contribute to isoproterenol-induced delayed afterdepolarizations in midmyocardial cells // *Am. J. Physiol.* 2013. V. 275. № 6. P. 1979–1992.

## Chloride Channels and Transporters – Role in the Electrical Activity of Pacemaker and Working Myocardium

Y. A. Voronina<sup>1, 2, \*</sup>, A. M. Karhov<sup>1, 2, \*\*</sup>, V. S. Kuzmin<sup>1, 2, \*\*\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

<sup>2</sup>Smirnov Institute of Experimental Cardiology, Chazov National Medical Research Centre of Cardiology, Moscow, 121552 Russia

\*E-mail: voronina.yana.2014@post.bio.msu.ru

\*\*E-mail: akarchoff@gmail.com

\*\*\*E-mail: ku290381@mail.ru

**Abstract** – Chlorine anions have a significant influence on the electrophysiological properties of excitable tissues, including myocardium. Chlorine anions and transmembrane chloride currents ( $I_{Cl}$ ) determine the configuration of action potentials (AP) in various regions of hearts. Disruption of transmembrane chloride transport leads to alterations in normal electrical activity, resulting in cardiac pathologies and arrhythmias. Currently, chloride conductivity and expression in the heart and a functional role have been confirmed for several types of macromolecules. These channels include CFTR, ClC-2, CaCC (TMEM16), and VRAC (LRRC8x). Additionally, chloride cotransporters (KCC, NKCC) and chloride-bicarbonate exchangers make a significant contribution to the regulation of intracellular chloride ion concentration ( $[Cl^-]_i$ ) and, consequently, the equilibrium potential for chloride ions ( $E_{Cl}$ ). The review covers the mechanisms by which chloride transmembrane transport influences the bioelectrical activity of cardiomyocytes and the potential functions of chloride and chloride currents in specialized regions of the heart.

**Keywords:** sinoatrial node, atrioventricular node, chloride channels, cation-chloride cotransporters, chloride-bicarbonate exchanger.

УДК 612.3

## УЧАСТИЕ РЕЦЕПТОРОВ СЕМЕЙСТВА T1R, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ЗА ПРЕДЕЛАМИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ, В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА

© 2024 г. В. О. Муровец<sup>а, \*</sup>, Е. А. Созонтов<sup>а, \*\*</sup>, В. А. Золотарев<sup>а, \*\*\*</sup>

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

\*E-mail: [murovetsvo@infran.ru](mailto:murovetsvo@infran.ru)

\*\*E-mail: [sozontovea@infran.ru](mailto:sozontovea@infran.ru)

\*\*\*E-mail: [zolotarevva@infran.ru](mailto:zolotarevva@infran.ru)

Поступила в редакцию 20.06.2024 г.

После доработки 02.08.2024 г.

Принята к публикации 09.08.2024 г.

Вкусовые мембранные рецепторы семейства T1R взаимодействуют со сладкими веществами — углеводами, искусственными сахарозаменителями и некоторыми аминокислотами. Важным результатом исследований в XXI в. стало обнаружение экспрессии этих рецепторов за пределами ротовой полости в основном в клетках, активно вовлеченных в метаболические процессы: энтероэндокринных клетках кишечника, панкреатических β-клетках, жировой и костной ткани и т. д. В представленном обзоре объединяются и анализируются современные данные о роли экстраоральных рецепторов семейства T1R в регуляции метаболизма, роста и дифференцировки клеток, что достигается через модуляцию секреции гормонов (инсулина, GLP-1, GIP), активности мембранных транспортеров, а также факторов клеточного роста и пролиферации. Описаны опосредованные T1R клеточные реакции на нутриенты, механизмы трансдукции сигнала, влияние на уровень инозитолтрифосфата, цАМФ и внутриклеточный Ca<sup>2+</sup>, стимулирующее действие на транспортеры глюкозы SGLT1 и GLUT2, влияние на mTOR и секрецию гормонов. Также рассматривается взаимодействие механизмов мембранной рецепции и метаболической детекции глюкозы по соотношению АТФ/АДФ в цитоплазме клетки. Приведены данные об эволюционной адаптации метаболических процессов, вероятно, связанной с рационом, проявляющейся в полиморфизме генов, кодирующих белки T1R. Сделано предположение, что экстраоральные вкусовые рецепторы сладких веществ и аминокислот могут быть мишенью для терапевтических воздействий при ожирении, гипергликемии, инсулинорезистентности и гепатостеатозе.

**Ключевые слова:** вкусовая чувствительность, пищеварение, гомеостаз глюкозы, рецепторы T1R, β-клетки, инсулин, сахарный диабет, ожирение.

**DOI:** 10.31857/S0301179824040052 **EDN:** ANAEWK

Восприятие сладкого вкуса моно- и дисахаридов, некоторых аминокислот и искусственных подсластителей вызывает чувство удовольствия и стимулирует эволюционно закрепленный выбор высококалорийной пищи. Избыточное потребление продуктов, содержащих сахара в большой концентрации наряду с уменьшением физической активности и наследственными факторами считается основной причиной глобального распространения ожирения, сахарного диабета 2-го типа (Д2Т), неалкогольной жировой болезни печени, сердечно-сосудистых заболеваний и т. д. [37, 47, 52, 85, 94]. Вкусовое восприятие сладкого осуществляется мембранными рецепторами семейства T1R, которые экспрессируются во вкусовых клетках 2-го типа, расположенных во вкусовых луковицах

на языке и в ротовой полости [23]. Полиморфизм генов *Tas1r*, кодирующих это семейство вкусовых рецепторов, потеря функциональности или отсутствие этих генов коррелируют с пищевыми предпочтениями и особенностями питания различных групп позвоночных [7, 8]. Современные представления о механизмах восприятия сладкого вкуса описаны нами в предыдущей публикации [6]. В предлагаемом обзоре мы рассмотрим функциональную роль так называемых экстраоральных рецепторов семейства T1R, т. е. экспрессированных за пределами ротовой полости. Сведения о вовлеченности T1R в регуляцию метаболизма углеводов начали накапливаться сразу же после их клонирования. Сейчас можно считать доказанным непосредственное участие T1R в стимуляции секреции

инсулина островковыми клетками поджелудочной железы, а также всасывания сахаров в кишечнике, выделения инкретинов, роста и развития жировой ткани. У лабораторных мышей удаление или изменение чувствительности этих рецепторов приводит к изменению инсулинорезистентности, толерантности к глюкозе, обмена липидов и другим метаболическим последствиям [1, 3, 72, 73, 76, 77, 80, 81, 95, 104, 105, 134]. Появляется все больше сведений, что и у человека полиморфизм T1R обуславливает не только вкусовое восприятие и пищевые привычки, но и влияет на углеводный и жировой обмен [118, 124]. Поддержание стабильного уровня глюкозы в крови требует согласованности пищевого поведения и энергетического обмена. Можно предположить, что однотипные мембранные хеморецепторы во вкусовой, эндокринной и пищеварительной системах образуют интегрирующий механизм, сопрягающий потребление и метаболизм. Практически доказанным можно считать тезис Kyriazis и соавт. [81], что мембранная T1R-зависимая рецепция у значительной части позвоночных функционирует параллельно и в дополнение к универсальному механизму метаболической детекции глюкозы, для работы которого необходимо поступление глюкозы в клетку с последующим ее расщеплением, приводящим к увеличению концентрации внутриклеточного АТФ. Данный метаболический сенсор включает АТФ-чувствительный K<sup>+</sup>-канал и специализированную изоформу фермента глюкокиназы [27, 55, 59, 130] (см. ниже).

#### Мембранная рецепция сладких веществ

Всасывание питательных веществ, их внутриклеточное расщепление, запасание в виде гликогена и жиров, и особенно регуляция этих процессов нуждаются в специализированных механизмах

рецепции нутриентов. Наличие мембранных рецепторов, непосредственно реагирующих на присутствие в тканевой жидкости веществ со сладким вкусом, предполагалось достаточно давно. На их существование, например, указывало действие низкокалорийных сахарозаменителей, не связанное с метаболическими процессами. В 1970-е годы был выделен хромосомный локус *Sac*, ассоциированный у инбредных линий мышей с предпочтением сахара и, как было показано позднее, большинства сладких веществ [9, 12, 44]. На рубеже веков была доказана идентичность этого локуса гену *Tas1r3* [11, 83, 110]. В настоящее время считается, что у всех позвоночных животных мембранные рецепторы семейства T1R играют главную роль во вкусовом восприятии сахаров и частично задействованы в рецепции аминокислот [9, 155].

Семейство T1R относится к рецепторам, связанным с G-белками (GPCR), и кодируется генами *Tas1r* (от taste – вкус). Выявлено не менее пяти белков этого семейства, из которых у высших позвоночных встречаются 3 (T1R1–3). Другое родственное ему семейство рецепторов T2R, кодируемое *Tas2r* генами отвечает за восприятие вкуса избегаемых веществ, органолептически характеризующихся как горькие. Это семейство более разнообразно и содержит десятки разновидностей рецепторных белков [8, 9, 103, 155].

T1R имеют типичную для GPCR структурно-функциональную организацию. Они в качестве основных блоков включают трансмембранный домен, образованный семью гидрофобными спиральными сегментами, пронизывающими плазматическую мембрану, которые соединены тремя внеклеточными и тремя цитоплазматическими петлями, большой внеклеточный N-концевой домен типа Venus flytrap (VFT, венерина мухоловка),

**Сокращения:** Д2Т – сахарный диабет 2-го типа; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ТКД – тест с кратким доступом; АС – аденилатциклаза; Akt – серин/треониновая киназа, фермент семейства протеинкиназ В; В6 – линия мышей C57BL/6; ССК – холецистокинин; DAG – диацилглицерин; ERK1/2 – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа 1/2; FoxO1 – Forkhead box protein O1, фактор транскрипции; VFT – внеклеточный N-концевой домен типа Venus flytrap (венерина мухоловка); G6P – глюкозо-6-фосфат; G $\alpha_{\text{gust}}$  –  $\alpha$ -гастдуцин; GSK – глюкокиназа, тексокиназа IV; GEF-H1 – фактор обмена гуаниновых нуклеотидов H1; GIP – глюкозозависимый инсулиноотропный пептид; GLP-1 – глюкагоноподобный пептид 1; GLUT2, GLUT4 и т.д. – изоформа 2, 4 и т.д. белка-транспортера глюкозы; GPCR – рецепторы, связанные с G-белками; *Htr2c* – ген 5-HT2C-рецептора, подтип серотониновых рецепторов; INS – инсулин; IP3 – инозитол-1,4,5-трифосфат; K $\text{ATP}$  – АТФ-чувствительный калиевый канал; mGLUR – метаболитный рецептор глутамата; mTORC1 – комплекс белков, включающий mTOR, субъединица C1; mTOR – “мишень рапамицина млекопитающих”, киназа; NPY – нейропептид Y; PDE – фосфодиэстераза; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; PI(4,5)P2 – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; PKC, PKD – протеинкиназа C и D; PLC $\beta$ 2 – фосфолипаза C $\beta$ 2; RankL – активатор ядерного фактора Каппа, TNFSF11 – цитокин семейства факторов некроза опухоли; Raptor – регуляторный белок комплекса mTOR; Rheb – ГТФ-связывающий белок суперсемейства генов Ras; RhoA/ROCK – Rho-ассоциированная протеинкиназа; RhoGTPase – серин/треониновая ГТФаза; RSK – рибосомальная S6 киназа; SGLT1 – натрий-глюкозный котранспортер 1; SiRNA – малые интерферирующие РНК; ShRNA – малые РНК, образующие шпильки, кшРНК; *slc2a2* – ген GLUT2 – белка-транспортера глюкозы; SNP – единичная нуклеотидная замена; T1R1, T1R2, T1R3 – вкусовой рецептор первого типа подтипа 1–3; T2R – вкусовой рецептор второго типа; *Tas1r1*, *Tas1r2*, *Tas1r3* – ген вкусового рецептора первого типа подтипа 1–3; *Tas2r* – ген вкусового рецептора второго типа; TRPM4, TRPM5 – катионные каналы транзитного рецепторного потенциала; TSC1/2 – комплекс туберина с гамартином; tubGTPase – тубулиновая ГТФаза; VDCC – потенциал-зависимый кальциевый канал; VIP – вазоактивный кишечный полипептид.

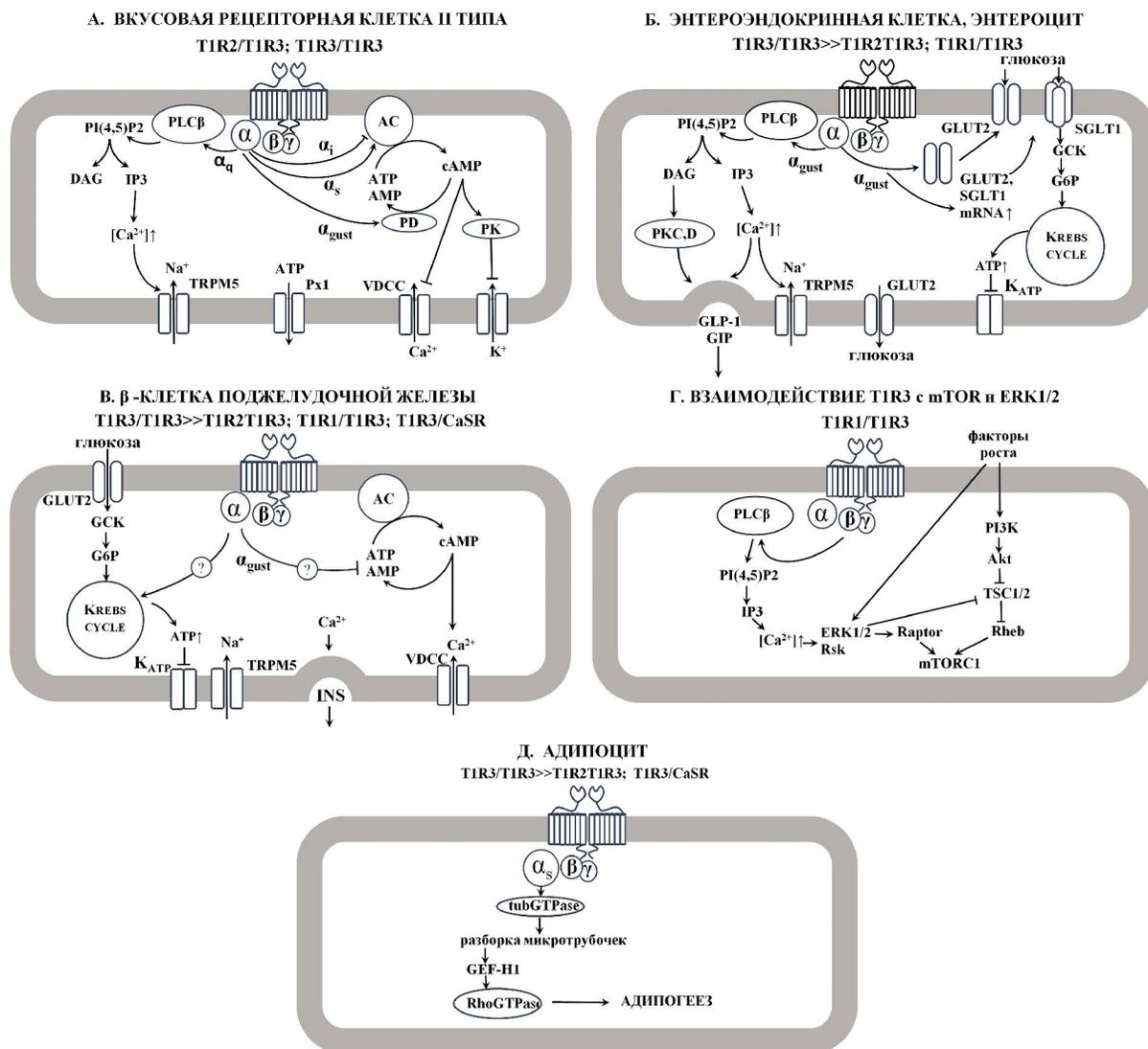
с которым с высоким сродством связываются лиганды рецептора, а также цитоплазматический С-концевой домен, включенный во взаимодействие с G-белками [8, 92, 155]. Функциональным является димер рецепторов T1. Белок T1R3 представляет общую субъединицу гетеродимерных вкусовых рецепторов сахаров и аминокислот [10, 23]. Гетеродимер из субъединиц T1R2 и T1R3 способен распознавать большой набор веществ со сладким вкусом: натуральные сахара, сладкие аминокислоты и спирты, а также искусственные сахарозаменители [110]. Глюкоза, сахароза, синтетический подсластитель сукралоза, аминокислоты связываются с внеклеточным доменом рецептора, при этом субъединица T1R3 имеет большую аффинность к сахарозе, чем T1R2, к глюкозе же, наоборот. Циклакат и сладкий пептид монеллин взаимодействуют с трансмембранным доменом T1R3 [111]. Гетеродимер T1R1/T1R3 обеспечивает восприятие вкуса аминокислот (вкус “умами”), прежде всего глутамата и таких усилителей вкуса, как инозин- и гуанозинмонофосфат, дополняя другие метаболитные рецепторы к глутамату [9, 23]. Выявлены межвидовые различия в чувствительности к аминокислотам. Например, у человека рецептор hT1R1/hT1R3 распознает только глутаминовую и аспарагиновую кислоты, а рецептор мыши mT1R1/mT1R3 – и другие L-аминокислоты: аланин, серин, треонин, глицин, метионин, аргинин [150]. Предполагается, что выполнять сенсорные функции могут и гомодимерные вкусовые рецепторы T1R2/T1R2 или T1R3/T1R3 [28, 30, 74, 165], а также гетеродимеры с кальциевым рецептором CaSR [54]. На существование функциональных гомодимеров указывает разница в уровне экспрессии субъединиц в ряде тканей (см. ниже).

Димер белков T1R связан с гетеротримерным G-белком, состоящим из  $G\alpha$ -субъединицы – гвстдудина,  $G\alpha_{\text{gust}}$  (*Gat3*, относится к подсемейству *Gai/o*; ген *Gnat3*),  $\beta$ -субъединицы,  $G\beta_1$  или  $G\beta_3$  (ген *Gnb1/3*), и  $\gamma$ -субъединицы  $G\gamma_{13}$  (*Gng13*) [36, 128, 155]. Помимо  $\alpha$ -гвстдудина, который считается специфическим для вкусовой системы, T1R могут быть связаны и с другими  $\alpha$ -субъединицами – как представителями семейства *Gai/o*, в частности  $\alpha$ -трансдудином, *Gai2*, *Gai3*, так и других семейств – *Gaq/11*, *Ga12/13* или *GaS* [60, 89, 128, 155, 164]. Подобное разнообразие, по всей видимости, обеспечивает тонкую настройку взаимодействия с разными внутриклеточными ферментативными каскадами. В клетках вкусовых лукович T1R связаны с инозитолтрифосфатным сигнальным каскадом, который называют «каноническим» [81] (рис. 1, А).

Канонический вкусовой внутриклеточный сигнальный каскад активируется при взаимодействии рецептора с агонистом, которое вызывает конформационные изменения молекулы рецептора и

приводит к диссоциации  $G\beta\gamma$ -димера и активации  $\alpha$ -гвстдудина, стимулирующего фосфолипазу C- $\beta$ 2 (PLC- $\beta$ 2), гидролизующую мембранный фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат (PI(4,5)P2) с образованием инозитол-1,4,5-трифосфата (IP3) и диацилглицерина (DAG). IP3, активируя риадиноновые рецепторы, способствует высвобождению  $Ca^{2+}$  из внутриклеточного депо (эндоплазматического ретикулума). Далее повышение концентрации внутриклеточного кальция стимулирует неселективные катионные каналы транзитного рецепторного потенциала TRPM5, что сопровождается поступлением  $Na^+$  в клетку, генерацией потенциала действия и выходом медиатора АТФ из специализированных каналов, сформированных двумя полуканалами белка паннексина 1 [23, 63, 89, 125, 155]. Соединенный с мембраной DAG может повысить сродство протеинкиназ C и D к кальцию, что в энтероэндокринных клетках кишечника приводит к секреции инкретиновых пептидов [126, 140]. T1R рецепторы могут также инициировать деполаризацию вкусовых клеток через цАМФ-зависимую протеинкиназу А (см. рис. 1А) [89, 95, 106, 107, 155]. С другой стороны,  $G\alpha_{\text{gust}}$  может быть задействован в поддержании концентрации цАМФ на низком уровне для улучшения передачи  $Ca^{2+}$  сигналов [25, 137, 161]. Так, во вкусовых почках лягушки стимулированный  $G\alpha_{\text{gust}}$  через фосфодиэстеразу гидролиз цАМФ активирует подавляемые цАМФ  $Ca^{2+}$  каналы [79]. Если при нокауте *Tas1r3* все-таки сохраняется некоторая чувствительность вкусовых клеток к сахарам (так называемая остаточная чувствительность) [154, 155], то удаление гена, кодирующего TRPM5, практически полностью отключает их способность к вкусовому восприятию [131]. Новейшие исследования показывают важную роль еще одного представителя  $Na^+$ -каналов – TRPM4. Его удаление существенно ослабляло, но не полностью исключало реакции на сладкие, умами (вкус аминокислот) и горькие стимулы, совместное же удаление TRPM4 и TRPM5 полностью устраняло все реакции [38]. Интересно, что TRPM4 и TRPM5 принадлежат к семейству, в которое входят терморепторные молекулы, и сами TRPM4 и TRPM5 демонстрируют зависимость от температуры, что до некоторой степени определяет связь чувствительности вкусовой системы и прежде всего сладкого вкуса с температурой [144].

В  $\beta$ -клетках поджелудочной железы выявляются все компоненты сигнальных каскадов, связанных с T1R [74, 80, 81, 107, 122]. Показано, что нокаут гена, кодирующего TRPM5, нарушает толерантность к глюкозе, а *in vitro* приводит к снижению амплитуды катионных токов и частоты колебаний внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в  $\beta$ -клетке в ответ на стимуляцию глюкозой, что тормозит выделение инсулина островками Лангерганса [26]. Опыты *in vitro* показывают, что T1R-опосредованные реакции



**Рис. 1.** Схема канонического и неканонических трансдукционных каскадов, активируемых гетеро- и гомодимерами мембранных вкусовых рецепторных белков семейства T1R, связанных с субъединицами G-белка:  $\alpha$  (гастдуцином –  $\alpha_{\text{gust}}$  и др),  $\beta$  и  $\gamma$ . Взаимодействие вкусовых ферментативных каскадов с глюкокиназа –  $K_{\text{ATP}}$ -зависимым метаболическим детектором глюкозы. Обозначения: AC – аденилатциклаза; Akt – серин/треониновая киназа; DAG – диацилглицерин; ERK1/2 – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа 1/2; G6P – глюкозо-6-фосфат; GSK – глюкокиназа; GEF-H1 – фактор обмена гуаниновых нуклеотидов H1; GIP – глюкозозависимый инсулинотропный пептид; GLP-1 – глюкагоноподобный пептид 1; GLUT2 – переносчик глюкозы 2; INS – инсулин; IP3 – инозитол-1,4,5-трифосфат;  $K_{\text{ATP}}$  – АТФ-чувствительный калиевый канал; mTORC1 – мишень рапамицина млекопитающих субъединица C1; PDE – фосфодиэстераза; PI(4,5)P2 – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; PKC, PKD – протеинкиназа C и D; PLC $\beta$ 2 – фосфолипаза C- $\beta$ 2; Pxl – канал паннексин 1; Raptor – регуляторный белок комплекса mTOR; Rheb – ГТФ-связывающий белок суперсемейства генов *Ras*; RhoGTPase – серин/треониновая ГТФаза; RSK – рибосомальная S6 киназа; SGLT1 – натрий-глюкозный котранспортер 1; TRPM5 – кальций-зависимый неселективный катионный канал переменного потенциала; TSC1/2 – комплекс туберина с гамартином; tubGTPase – тубулиновая ГТФаза; VDCC – потенциал-зависимый кальциевый канал.

$\beta$ -клетки поджелудочной железы могут осуществляться несколькими сигнальными каскадами (см. рис. 1, Б) в зависимости от типа лиганда (сахарозаменитель или сахар) [74]. В случае активации гастрдуцином мембранной аденилатциклазы, синтезируемый цАМФ может действовать на канал

TRPM5, за чем следует деполяризация мембраны и открытие  $\text{Ca}^{2+}$  каналов L-типа, при этом поступление  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь клетки стимулирует выброс гормона на инсулина [74]. Участие внеклеточного кальция в секреции инсулина связано с важной проблемой резорбции кости (см. ниже).

*Полиморфизм вкусовых рецепторов T1r*

Сравнение вкусовых генов в разных таксонах позвоночных позволяет реконструировать эволюционные адаптации к изменению рациона [7], при этом внимание исследователей сосредоточено прежде всего на генах с нарушенной функциональностью, так называемых псевдогенах, накопивших мутации, не позволяющие им правильно функционировать. Нарушения транскрипции одного или нескольких вкусовых генов выявлены в разных группах позвоночных животных [7, 8, 166, 167]. Так, широко известное выпадение вкусовой чувствительности к сладкому у домашних кошек и крупных кошачьих хищников сочетается с псевдогенизацией *Tas1r2* [8]. У других облигатных хищников: морских львов, тюленей, усатых и зубатых китов [65], а также пингвинов [166], – инактивированы все три гена *Tas1r1–3*, а у некоторых видов лягушек гены семейства T1R вообще не выявляются [8]. Удаление генов *Tas1r2* и *Tas1r3* у мышей ослабляет нейрональные реакции на сладкие вещества, подавляет предпочтение натуральных сахаров и низкокалорийных искусственных сахарозаменителей в тесте краткого доступа. При длительной экспозиции тестируемых веществ нокаут исключает потребление некалорийных сахарозаменителей и снижает потребление низких концентраций натуральных сахаров [28, 49, 104, 165]. Показано, что удаление гена *Tas1r2* сказывается на энергетическом обмене в целом. При этом усиливается окисление углеводов и снижается окисление липидов [136]. Диета хищников более чем на 70% состоит из животных тканей и содержит мало углеводов, что хорошо согласуется с отсутствием у них специализированного рецептора глюкозы на основе T1R2 в отличие, например, от всеядных [129]. При голодной хищники сохраняют повышенный уровень глюкозы в крови, а также демонстрируют инсулинорезистентность и другие клинические признаки Д2Т. При этом у хищных отсутствует печеночная глюкокиназа – важный фермент, обеспечивающий конверсию глюкозы в липиды [129].

Специфическую диету большой панды *Ailuropoda melanoleuca*, состоящую на 99% из побегов бамбука, связывают с выпадением чувствительности к аминокислотам, вызванной псевдогенизацией *Tas1r1* [167]. В то же время удаление *Tas1r1* у мышей хотя несколько изменяет предпочтение аминокислот, но не исключает его полностью, так как имеются другие пути рецепции, предположительно зависящие от метаболитных рецепторов глутамата mGLUR [9, 23, 91]. Для рыбы белого амура *Stenopharyngodon idella*, в течение жизни в процессе роста переходящей от хищничества (питание бентосом и зоопланктоном) к питанию водными растениями, показана ассоциированная с этим эпигенетическая модификация (метилование) регуляторного участка гена *Tas1r1*, приводящая к

снижению экспрессии *Tas1r1* в кишечнике [19]. Важность системы T1R при преимущественном питании сахарами подтверждает пример колибри *Archilochus colibris*, у которых, как у большинства птиц, утрачен функциональный белок T1R2. Однако чувствительность к сладкому у этих птиц восстановилась за счет мутации T1R1 рецептора, который перестал реагировать на аминокислоты, но приобрел аффинность к сахарам [15].

У грызунов и человека выявлены многочисленные полиморфные изменения генов вкусовых рецепторов, большинство из которых относительно нейтральны, но некоторые вызывают заметные изменения в чувствительности. В исследованиях на мышах анализировались эффекты *Sac*-полиморфизма гена *Tas1r3* на особенности питания и вкусовой чувствительности. Доминантная аллель *Sac<sup>b</sup>*, первоначально обнаруженная у мышей линии C57BL/6, определяет повышенное предпочтение сахарина и других сладких веществ, а также аминокислот. Рецессивная аллель *Sac<sup>d</sup>*, имеющаяся у линий DBA/2, 129P3/J и других ассоциируется с меньшим потреблением сладкого [11, 13, 44, 110]. Сопоставление предпочтения сахарина и выявленных полиморфизмов гена *Tas1r3* у 30 линий мышей показало, что известные аллельные варианты гена определяются тремя несинонимичными единичными нуклеотидными заменами (SNP), среди которых замена T179C, приводящая к замещению аминокислоты изолейцина на треонин в положении 60 во внеклеточном N домене белка T1R3, оказывает наибольшее воздействие и является основной причиной различий в чувствительности, связанных с аллелью *Sac* [120]. В опытах *in vitro* установлено, что T179C замена влияет на связывание T1R3 с сахарозой, глюкозой и сукралозой, ограничивая конформационные изменения VFT-домена и существенно снижая аффинность рецептора, что приводит к 10-кратному увеличению эффективной дозы сахарозы [111]. Inoue и соавт. [61] исследовали влияние полиморфизма *Sac* на вкусовые предпочтения и нейрональные ответы у конгенной линии мышей 129P3/J.C57BL/6-*Tas1r3*, выведенной в серии обратных скрещиваний гибридов F<sub>1</sub> C57BL/6 (B6) × 129P3/J (129) с родительской линией 129. Было показано, что аллельные варианты *Tas1r3* оказывают влияние на вкусовые реакции на сахара (сахароза, глюкоза, фруктоза), искусственные сахарозаменители (сахарин, ацесульфам калия, сукралоза), некоторые аминокислоты (D-триптофан, D-фенилаланин, L-пролин).

Широкая экспрессия генов вкусовых рецепторов за пределами вкусовой системы в органах и тканях, участвующих в метаболизме углеводов и липидов, а также в эндокринной системе, предполагает их вовлеченность в регуляцию гомеостаза. В настоящее время известны *in vitro* и *in vivo* данные, подтверждающие это предположение. Наши

исследования *Tas1r3*-ген-нокаутной линии мышей, полученной на основе линии C57BL/6 [28], показали, что удаление этого гена у мышей, содержащихся на стандартной сбалансированной диете, помимо нарушения вкусового восприятия сладких веществ и снижения их потребления, приводит к уменьшению толерантности к глюкозе, увеличению массы тела и жирового депо. У сытых животных отмечено усиление инсулинорезистентности, а после 18-часового голодания — нарушение глюконеогенеза и дислипидемии [1, 3, 104].

По сравнению с наследственными факторами, влияющими на вкусовое восприятие сладких веществ, генетическая архитектура висцеральной чувствительности к глюкозе и сахарозаменителям оказывается более сложной. При этом влияние полиморфизма рецепторов сладкого маскируется вариациями фонового генотипа. В частности, потребление сладких веществ гибридами F2, полученными от скрещивания линий мышей C57BL/6 × 129P3/J (носителей разных аллелей *Sac*), зависело от вариаций *Tas1r3* в существенно меньшей степени (10–35%), чем предпочтение (64–96%) [12, 62]. Для оценки влияния полиморфизма *Tas1r3* на вкусовую чувствительность и метаболизм мы применили сравнительно простой подход, основанный на сравнении реакций гибридов F1, полученных от скрещивания мышей линии 129 с линией B6, либо нокаутной по гену *Tas1r3* линией B6-*Tas1r3KO* [2, 4, 105]. Эти гибриды, имея идентичный фоновый генотип, различаются лишь набором локусов *Sac*: одни несут как доминантную, так и рецессивную аллель, *Sac<sup>d</sup>* и *Sac<sup>b</sup>* (гибриды *Sac<sup>d/b</sup>*), другие — единственную рецессивную аллель *Sac<sup>d</sup>* (*Sac<sup>d/0</sup>*). Для контроля возможных эффектов гаплонедостаточности из-за гемизиготности *Tas1r3* также были получены F1 гибриды B6 × B6-*Tas1r3KO* (*Sac<sup>b/0</sup>*). В тестах вкусовой чувствительности, ТКД и 48-часовом тесте с произвольным выбором из двух растворов было показано, что присутствие доминантной аллели *Sac<sup>b</sup>* предопределяет увеличение предпочтения низких (1–4%) концентраций сахарозы, а также высоких концентраций неметаболизируемых подсластителей — сахарина, сукралозы и ацесульфама К [2, 105]. Не менее важно, что у сытых животных наличие доминантной аллели *Sac<sup>b</sup>* сопряжено с повышенной толерантностью к глюкозе, быстрой утилизацией глицерина, увеличением массы тела. Контроль эффекта гемизиготизации показал, что гаплонедостаточность *Sac* приводит к снижению постпрандиального уровня инсулина, увеличению массы тела, а также массы околопочечного жира и печени, но не влияет на предпочтение сладкого в ТКД, толерантность к глюкозе и утилизацию глицерина [4, 105]. Можно отметить, что анализ данных, приводимых в ранних работах Reed и соавт. [119, 120], в которых сопоставлялись уровни предпочтения сахарина с выявленными

полиморфизмами у 30 линий мышей, а также с морфометрическими показателями у 40 линий мышей, в целом позволяет сделать осторожное заключение, что существует негативная корреляция между предпочтением сахарина и массой жира, а также наличием полиморфизма T179C и массой жира.

В человеческих ортологах генов вкусовой чувствительности *TAS1R1–3* также выявлены синонимичные и несинонимичные SNP, равно как установлены гаплотипы, характерные для отдельных популяций, оказывающие значимое влияние на вкусовые предпочтения [42]. Ген *TAS1R3* оказался более эволюционно консервативным, а максимальная изменчивость характерна для *TAS1R2*. При этом наибольшее число замен в *TAS1R2* выявлено в африканской популяции [71]. Два SNP в промоторе рецептора *TAS1R3* (–1572 rs307355 и –1266 rs35744813) влияют на оценку сладости сахарозы и встречаются в разных регионах земли с разной частотой, объясняя 16% вариации восприятия сахарозы в популяции. При этом сочетанное проявление С-замен, определяющих повышенную реакцию, встречается во всех регионах за исключением Африки, а частота Т-аллели, связанной с ослабленной реакцией, оказалась наименьшей в европейской популяции [46]. Исследование полиморфизмов *TAS1R2* у пациентов с Д2Т показало, что определяемая rs35874116 замена Ile191Val снижает ежедневное потребление сахарозы, глюкозы и фруктозы, а также уровень инсулина в крови натощак [41]. Влияние другого SNP *TAS1R2* на порог чувствительности к сахарозе зависело от индекса массы тела [31]. Кроме того, выявлена ассоциация полиморфизма *TAS1R2* с концентрацией триглицеридов в крови [118], показана связь между rs3935570-полиморфизмом *TAS1R2*, а также rs1499821-полиморфизмом гена транспортера глюкозы *GLUT2* с кариесом зубов [124]. Полиморфизм локуса *GNAT3*, кодирующего α-гаструцин, также оказывает воздействие на потребление сладкого у человека [45]. Исследования обнаруженных в человеческой популяции несинонимичных замен в N-терминальном конце T1R1 (A110V and R507Q) и трансмембранном домене T1R3 (F749S и R757C) показали их существенное влияние на связывание рецепторов с глутаматом натрия *in vitro* [117].

#### *T1r* рецепторы энтероэндокринных клеток кишечника и продукция инкретинов

Согласно классической концепции инкретинового эффекта, пероральный прием глюкозы стимулирует больший выброс инсулина, чем внутривенная инфузия, и приводит к большему снижению уровня глюкозы в плазме крови [121]. Этот феномен в значительной степени обусловлен двумя инсулинотропными гормонами, которые стимулируют β-клетки, глюкагоноподобным пептидом-1 (GLP-1) и глюкозозависимым инсулинотропным

пептидом (GIP), выделяемыми энтероэндокринными L- и K-клетками кишечника соответственно. Считается, что после приема пищи за счет совместного действия инкретинных секретируется до 50% инсулина [35, 121, 140]. Под действием пищевых углеводов и жиров GLP-1 синтезируется из проглюкагона в присутствии конвертазы, а затем выделяется в кровь [53]. Продукцию GLP-1 в кишечнике также стимулируют дуоденальный GIP и M-холинергические воздействия [96]. До открытия вкусовых рецепторов основная роль в регуляции секреции инкретинных гормонов отводилась системе метаболической детекции. Полученные к настоящему времени данные позволяют дополнить этот механизм. Современная концепция T1R-зависимой регуляции предполагает влияние мембранных рецепторов сахаров и аминокислот на компоненты канонического сигнального каскада:  $\alpha$ -гастдуцин, PLC $\beta$ 2, SGLT1, и внутриклеточный Ca<sup>2+</sup> (рис. 1Б) [86].

В человеческих L-клетках GLP-1 и пептид YY коэкспрессируются с T1R3,  $\alpha$ -гастдуцином и TRPM5 [64, 72, 76, 77, 126, 139]. У *Tas1r3*-нокаутных мышей и в эксплантатах их подвздошной кишки выброс GLP-1 в ответ на люминальное введение глюкозы заметно снижен [76]. Сукралоза, добавленная в среду с клеточной линией мышей GLUTag или L-клетками человека линии NCI-H716, усиливала выработку GLP-1, что подавлялось видоспецифичными ингибиторами рецепторов сладкого вкуса гурмарином и лактизолом соответственно [64, 90]. В культуре энтероэндокринных клеток тонкого кишечника мыши блокада T1R2/T1R3 гурмарином прекращала продукцию GLP-1 и GIP [133]. По всей вероятности, видовые особенности экспрессии вкусовых рецепторов могут влиять на выраженность инкретинного эффекта. Так, доля L-клеток, экспрессирующих вкусовые белки, колеблется от 15% в тощей кишке мыши, до 90% в двенадцатиперстной кишке человека [126, 139, 142].

В последнее время появились данные о том, что вкусовые клетки ротовой полости сами синтезируют гормоны инкретинного ряда и имеют рецепторы к ним, создающие возможность для влияния эндогенных метаболических сигналов на вкусовую чувствительность [34, 40]. Вкусовые клетки выделяют холецистокинин, нейропептид Y [57], вазоактивный интестинальный пептид (VIP) [56], GLP-1 и собственно глюкагон, а также грелин и другие [20, 34]. При этом выделение GLP-1 в ответ на повышение концентрации глюкозы наблюдалось и у *Tas1r3*-ген нокаутных [78].

Помимо этого, экспрессия вкусовых рецепторов во вкусовых клетках зависит от уровня нутриентов в крови, что показано как для глюкозы, так и для аминокислот, солей и других вкусовых веществ [24, 132]. Так функционирует обратная связь между вкусовой рецепцией и метаболическим статусом

организма, который отслеживается как собственно вкусовыми клетками, так и экстраоральными T1R рецепторами кишечника.

#### *Влияние T1r рецепторов на транспорт сахаров в кишечнике*

Семейство транспортных белков GLUT, обеспечивающих облегченную диффузию глюкозы и других углеводов, кодируется генами *slc2a* и включает 14 изоформ с различной субстрат-специфичностью, локализацией экспрессии и кинетикой взаимодействия [102]. Инсулиннезависимый транспортер GLUT2 обнаруживается в базолатеральной и апикальной мембранах энтероцитов, где он участвует в трансэпителиальном переносе глюкозы, но может также транспортировать фруктозу, маннозу и глюкозамин [51, 68, 69, 86]. Предполагается, что GLUT2 особенно важен для обеспечения устойчивого всасывания глюкозы при достижении ею относительно высоких концентраций в просвете кишки, когда стандартный механизм SGLT1 работает на пределе своего насыщения (> 30 мМ) [69, 70, 102]. На начальном этапе поступление глюкозы внутрь энтероцита из просвета кишечника обеспечивается механизмами активного транспорта посредством натрий-глюкозного котранспортера-1 (SGLT1) и пассивным транспортом посредством уже имеющихся апикальных белков-переносчиков GLUT2 [51, 68, 69, 86]. Далее реакции, контролируемые протеинкиназой C, вызывают быструю дополнительную транслокацию GLUT2 из цитоплазмы в апикальную мембрану [68, 69, 87]. При этом деполяризация мембраны, вызванная работой SGLT1, обеспечивает вход Ca<sup>2+</sup> через потенциал-зависимый Ca<sub>v1.3</sub> канал, а затем активацию фосфолипазы  $\beta$ II, зависящую от транслокации GLUT2 [87, 99, 100]. Интересно, что инсулин вызывает интернализацию GLUT2 у здоровых животных, но не у животных с сахарным диабетом, что может служить причиной повышения абсорбции сахаров при данной патологии [149].

Показано, что T1R3 и  $\alpha$ -гастдуцин оказывают непосредственное влияние на всасывание сахаров в слизистой оболочке тонкого кишечника, стимулируя экспрессию SGLT1 и GLUT2 и, следовательно, облегченную диффузию (см. рис. 1, Б) [86, 90]. В опытах Margolskee и соавт. [90] двухнедельное кормление диетой с повышенным содержанием сахарозы, а также экспозиция растворов некалорийных сахарозаменителей (ацесульфамата калия, сукралозы и сахарина) усиливала экспрессию SGLT-1 только у мышей дикого типа, но не у *Tas1r3*- и  $\alpha$ -гастдуцин-ген-нокаутных животных. Кроме того, добавка сахарина стимулировала захват глюкозы в эксплантате ткани кишечника. Массе и соавт. [86] показали рост экспрессии гена *slc2a2* (GLUT2) у наркотизированных крыс в ответ на стимуляцию полости кишечника

сахарозаменителями. Интересно, что у кошачьих не выявлено адаптивное усиление захвата глюкозы, что вполне закономерно из-за отсутствия функционального T1R2 рецептора [8, 16]. В то же время камчатский лосось *Oncorhynchus mykiss*, для которого характерно присутствие T1R2,3-подобных рецепторов в кишечнике, демонстрирует адаптивный рост экспрессии GLUT2 в ответ на нагрузку моносахаридами, но при этом сахара дозозависимо подавляют экспрессию вкусовых рецепторов [116].

Нужно отметить, что активный транспорт с помощью SGLT1, сопряженный с транспортом Na<sup>+</sup>, вызывает деполяризацию клетки, что само по себе может служить сигналом о присутствии глюкозы [145]. Этот механизм, вероятно, действует в глюкозо-чувствительных нейронах гипоталамуса [113]. В ряде работ показано, что во вкусовых клетках SGLT1 может непосредственно участвовать в рецепции глюкозы, чем объясняется известный феномен потенциации реакции на сладкое солью [162]. Кроме того, выделение инкретинных энтероэндокринными клетками также зависит от наличия SGLT1 [29].

Еще одним сенсором сахаров может быть белок SGLT3. Исследование гена человека *slc5a4a*, кодирующего транспортер hSGLT3, выявило 70%-ное сходство аминокислотной последовательности с hSGLT1. При этом hSGLT3 не выполняет транспортную функцию по отношению к сахарам. Однако при экспрессии hSGLT3 в ооците *Xenopus laevis* аппликация глюкозы вызывала Na<sup>+</sup>-зависимую деполяризацию мембраны, которая подавлялась блокатором SGLT флоризином [32]. Ген и белок SGLT3 экспрессируются в тонком кишечнике в холинэргических нейронах подслизистого и миоэпителиального сплетений, но не в энтероцитах. Кроме того, он обнаруживается в скелетной мускулатуре совместно с геном рецептора ацетилхолина [32]. Это предполагает существование альтернативных механизмов чувствительности к глюкозе, которые тем не менее могут находиться под контролем вкусовых рецепторов семейства T1R.

Любопытно, что экспрессия генов вкусового рецептора *Tas1r1–3*, связанных с ними G-белков, а также транспортеров сахаров *slc5a1* (SGLT-1), *slc2a2* (GLUT2), *slc2a5* (GLUT5) и, вероятно, глюкосенсора *slc5a4a* (SGLT3) и *slc5a4b* во рту и ЖКТ имеет выраженную суточную ритмику. При этом экспрессия вкусовых генов максимальна в языке, α-гастродуодина – в желудке, а переносчиков – в дистальных отделах кишечника (двенадцатиперстная < тощая < подвздошная). По большей части экспрессия нарастает к вечеру [112]. В отличие от *Tas1r3*, экспрессия которого выявляется на всем протяжении ЖКТ, значимая экспрессия *Tas1r2* обнаруживается только в тонком кишечнике [58, 138], что указывает на разный субъединичный

состав (T1R2+3 / T1R3+3) и разную чувствительность мембранного рецептора по ходу ЖКТ.

Белок GLUT2 рассматривается как важнейший компонент метаболической детекции глюкозы в β-клетках поджелудочной железы [27, 55, 59, 130]. Генетическая абляция GLUT2 приводит к раннему развитию диабета и ранней смертности, при этом восстановление экспрессии гена обращало эти процессы [146]. Впрочем, недавние исследования ставят под сомнение исключительную необходимость GLUT2 для секреции инсулина. Ограниченный только β-клетками нокаут гена у мышей, полученный с помощью Cre-Lox-техники, не приводит к нарушению секреции инсулина, изменению толерантности к глюкозе или тощакового уровня глюкозы [17]. При диабете 1-го типа у крыс (вызванном стрептозотоцином или аутоиммунной природой у линии BB/Wor) экспрессия гена и белка GLUT2 в β-клетках снижалась в зависимости от величины гипергликемии [114, 147]. Ко времени, когда у крыс линии BB/Wor экспрессия GLUT2 не выявлялась уже в 50% β-клеток, поступление глюкозы в них сокращалось уже до 10% от нормы, и они переставали реагировать на колебания внеклеточной концентрации глюкозы, при этом наблюдалась гиперсекреция инсулина [114, 148, 160]. Модель Д2Т, db/db линия мышей с генетическими нарушениями рецепции лептина, также характеризуется подавленной экспрессией GLUT2 [148]. В то же время при экспериментальной гипергликемии, вызванной длительной инфузией глюкозы, у интактных животных и животных с частичной панкреатэктомией, напротив, наблюдался рост экспрессии переносчика [148]. Таким образом, повышенный уровень глюкозы и инсулина крови в данных моделях не могут рассматриваться как непосредственная причина резкого падения экспрессии GLUT2 [148]. Исходя из данных исследований [58, 95, 123] (см ниже), показавших существенный рост экспрессии вкусовых генов в гипоталамусе и β-клетках, а также уровня самих рецепторов при голодании и его снижение при гипергликемии, можно предположить, что при диабете экспрессия T1R в значительной мере подавлена, и активация этого рецептора не может оказать достаточное стимулирующее влияние на экспрессию переносчиков глюкозы, что негативным образом сказывается на функционировании β-клеток.

#### *T1R рецепторы в β-клетках панкреатических островков*

Сведения о присутствии вкусовых рецепторов в β-клетках островковой ткани поджелудочной железы имеют очевидное значение для поиска новых методов терапии нарушений энергетического обмена. Экспрессия генов *TAS1R1–3* и ферментов внутриклеточного каскада трансдукции вкусового сигнала была выявлена в β-клетках человека и

мышь,  $\alpha$ -клетках мышь, а также у глюкозореактивной линии  $\beta$ -клеток инсулиномы мышь MIN6 [74, 80, 81, 107, 122]. В  $\beta$ -клетках экспрессия T1R3 намного превышает T1R2, что свидетельствует о присутствии в них функционального гомодимера T1R3/T1R3 и/или гетеродимера T1R с кальциевым рецептором CaSR [54, 74, 95]. При этом экспрессия *TAS1R1* гена в островковой ткани поджелудочной железы человека почти не отличается от *TAS1R3* [81]. Показано, что искусственные подсластители стимулируют секрецию инсулина в островках мышь, которая ослабевает под действием T1R3-блокатора гурмарина [74, 81, 107]. Лактизол, аллостерический ингибитор человеческого T1R3, частично подавляет вызванное фруктозой высвобождение инсулина в панкреатических островках человека [81]. Удаление генов *Tas1r2*, *Tas1r3* или *Trpm5* приводит к существенному снижению потенцирующего влияния подсластителей и фруктозы на выброс инсулина в островках мышь *in vitro* [81]. Таким образом, ген *Tas1r2*, несмотря на низкий уровень экспрессии, влияет на потенцирующий эффект фруктозы [81]. Получены также сведения о роли рецептора аминокислот T1R1/T1R3 в поджелудочной железе. Так, L-аминокислоты глутамат и аргинин стимулировали выделение инсулина в клетках MIN6, которое угнеталось лактизолом [115].

Экспрессия рецепторов семейства T1R зависит от метаболического статуса организма. Показано, что голодание в течение 24 часов у мышь стимулирует экспрессию мРНК T1R2 и T1R1 в гипоталамусе [123]. Также 24-часовое голодание приводило к резкому увеличению содержания белка T1R3 в  $\beta$ -клетках при том же уровне мРНК, что и до голодания. После кормления содержание белка быстро снижалось. Островки Лангерганса, взятые от голодных мышь, выделяли больше инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой, чем у сытых, а их реакция в большей мере подавлялась T1R3-блокатором гурмаринном [95]. При голодании удаление гена *Tas1r2* у мышь или блокада рецепции лактизолом в эксплантатах поджелудочной железы человека нарушала регуляцию базальной секреции инсулина в островковой ткани, вызывая его гиперсекрецию [80]. В то же время у генетических моделей ожирения, *ob/ob* и *db/db* линий мышь с гипергликемией, содержание T1R3 белка было снижено [95]. В другом исследовании [58] было показано, что высококалорийная диета у C57BL/6J и *ob/ob* мышь подавляет экспрессию *Tas1r2* и *Tas1r3* в гипоталамусе, не влияя на экспрессию в коре, и снижает их экспрессию в двенадцатиперстной кишке. Интересно, что у C57BL/6J диета стимулировала экспрессию *Tas1r2* и *Tas1r3* в печени [58].

Данные об активности вкусовых рецепторов в поджелудочной железе *in vivo* весьма ограничены. Известно, что нокаут гена, кодирующего

$\alpha$ -гастдуцин [76], замедляет секрецию инсулина в ответ на нагрузку глюкозой. Kyriazis и соавт. [80] не отметили влияния делеции *Tas1r2* на толерантность к глюкозе при ее внутрибрюшинном введении у мышь линии C57BL/6J после 18-часового голодания. В то же время наши исследования *in vivo*, проведенные на *Tas1r3* нокаутах, полученных на основе линии C57BL/6J [28], показали, что удаление гена при содержании на стандартной диете снижает толерантность к глюкозе и усиливает инсулинорезистентность, нарушает глюконеогенез, способствует увеличению массы тела и жирового депо, и вызывает дислипидемию [1, 3, 104].

Взаимодействие разнообразных лигандов с T1R рецепторами в панкреатических  $\beta$ -клетках (культура клеток MIN6) активирует несколько внутриклеточных сигнальных ферментативных путей, что приводит к увеличению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  и цАМФ (см. рис. 1, В). При этом агонисты активируют разные G-белки и связанные с ними ферментативные каскады. Например, сукралоза и ацесульфам в равной мере повышают внутриклеточное содержание  $Ca^{2+}$  и цАМФ. В то же время сахарин влияет на концентрацию цАМФ, но не  $Ca^{2+}$ , а глицирризин — только на концентрацию  $Ca^{2+}$  внутри клетки [106, 107].

Вклад канонического внутриклеточного T1R-зависимого сигнального каскада в регуляцию секреции инсулина в  $\beta$ -клетках не выяснен. Однако показано, что активация T1R3 приводит к увеличению продукции АТФ в митохондриях [73, 108], а нокаут TRPM5 сокращает выброс инсулина, вызванный аппликацией глюкозы [26]. В культуре мышинных панкреатических клеток MIN6 Nakagawa и соавт. [107] обнаружили низкий уровень экспрессии связанного с T1R рецепторами G-белка  $\alpha$ -гастдуцина. При этом нокаут  $\alpha$ -гастдуцина не влиял на повышение внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  под действием некалорийных сахарозаменителей. Сравнительно недавно для другой INS-1 линии крысиных панкреатических  $\beta$ -клеток установили, что нокаут  $\alpha$ -гастдуцина приводит к значительному увеличению концентрации цАМФ и  $Ca^{2+}$  вместе с базальным уровнем инсулина. Причины расхождений экспериментальных результатов, кроме видовых различий, все еще не установлены. Также не ясно, с каким именно мембранным рецептором в этих моделях связан  $\alpha$ -гастдуцин, хотя сделано предположение о его взаимодействии с рецепторами аминокислот и жирных кислот [153].

*Соотношение мембранного рецепторного пути регуляции энергетического обмена с механизмом метаболической детекции*

Важным дискуссионным вопросом остается соотношение механизмов, опосредованных вкусовыми рецепторами, с классическим механизмом

метаболической детекции. Метаболическая детекция глюкозы в целом сводится к последовательности процессов, включающих перенос глюкозы внутрь клетки низкоаффинным транспортером GLUT2, ее фосфорилирование с помощью особой изоформы глюкокиназы (гексокиназа IV; GSK) и гликолиза, что приводит к росту отношения АТФ/АДФ [27, 55, 59, 130]. Повышение концентрации АТФ стимулирует закрытие АТФ-чувствительных мембранных калиевых каналов  $[K_{ATP}]$ , вызывающее деполяризацию мембраны и вход в цитоплазму ионов  $Ca^{2+}$ , после чего следует реакция клетки [55, 59]. Данный GSK– $K_{ATP}$ -зависимый механизм в значительной мере контролирует секрецию инсулина в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы [130], GLP-1 и GIP в энтероэндокринных клетках слизистой оболочки кишечника [122, 156], а также реакцию глюкосенсорных нейронов гипоталамуса [98].

Тем не менее уже на начальном этапе исследования GSK– $K_{ATP}$ -зависимого механизма появились данные, указывающие, что метаболическая детекция – не единственный способ глюкозорецепции в поджелудочной железе, кишечнике и в центральной нервной системе [43, 48, 141, 156]. Исследования, выявившие новую роль T1R в островковых клетках поджелудочной железы и энтероцитах, в то же время показали взаимозависимость рецепторного и метаболических механизмов. В культивируемых островках Лангерганса мыши положительное влияние фруктозы или некалорийных подсластителей на секрецию инсулина требует оптимального уровня глюкозы в среде. Так, резкое снижение концентрации глюкозы отменяло потенцирующий эффект фруктозы в островковой ткани [81], а также стимулирующую активность некалорийных подсластителей [107] в клетках MIN6. С другой стороны, воздействие на рецепторы сладкого вкуса становилось неэффективным после деполяризации  $\beta$ -клеток высокими дозами толбутамида, ингибитора  $K_{ATP}$ -каналов [81]. Тем не менее в отсутствие полной пищевой депривации, когда  $\beta$ -клетки должны быть частично деполяризованы за счет  $K_{ATP}$ -зависимых механизмов [81, 163] и поддерживается базальный уровень инсулина в крови, делеция T1R3 сопровождалась значительным нарушением толерантности к глюкозе как при ее внутривенном, так и при пероральном введении [1, 104].

Можно предположить, что метаболическая детекция глюкозы создает необходимую деполяризацию клетки, на фоне которой нутриенты, а также неметаболизируемые сахарозаменители могут усиливать продукцию инсулина через T1R-опосредованный сигнальный путь. Большой набор данных, полученных за прошедшее десятилетие, подтверждает это предположение. Можно считать доказанным, что у многих позвоночных, включая человека и грызунов, во всех специализированных

клетках, чувствительных к сладким веществам, существуют два механизма рецепции, один из которых (T1R2/T1R3-опосредованный) определяет наличие лиганда, а другой – его метаболическую ценность (см. рис. 1, В). Оба механизма метаболической и специфической рецепции действуют синергично [141]. При этом отсутствие одного из них лишь до некоторой степени может быть компенсировано оставшимся.

#### *Взаимодействие T1R с внутриклеточными регуляторными системами mTOR и ERK1/2*

Снижение секреции инсулина вследствие уменьшения числа и/или нарушения функции  $\beta$ -клеток, а также повышение инсулинорезистентности считаются основными факторами, приводящими к нарушению толерантности к глюкозе у пожилых людей [88, 143]. В связи с этим значительный интерес представляют недавно полученные сведения об участии T1R-опосредованной рецепции аминокислот в регуляции активности внутриклеточного комплекса белков mTORC1, включающего киназу mTOR – “мишень рапамицина у млекопитающих”, которая регулирует рост, деление, синтез белка, аутофагию и выживание клетки. Этот ферментативный комплекс интегрирует системные сигналы (факторы роста и гормоны, включая инсулин) с локальными сигналами о доступности аминокислот, глюкозы и кислорода, и текущем метаболическом состоянии клетки. Ограничение доступности аминокислот стимулирует аутофагию через угнетение комплекса mTORC1 [97, 158, 159, 168]. Известные механизмы регуляции числа  $\beta$ -клеток включают, с одной стороны, деление и неогенез из внеостровковых источников, с другой стороны – апоптоз [152]. У человека при ожирении увеличивается относительный объем  $\beta$ -клеток, но по мере развития гипергликемии и Д2Т объем снижается [84]. У мышей и крыс при тех же нарушениях наблюдается гипертрофия островков Лангерганса, увеличение массы  $\beta$ -клеток на фоне усиления их апоптоза [18, 66]. Установлено, что активация mTORC1 у мышей способствует пролиферации  $\beta$ -клеток и в то же время усиливает их апоптоз, стимулирует их гипертрофию, увеличение площади островковой ткани и среднего размера островка, улучшает толерантность к глюкозе [14, 33, 101].

У мышей линии C57BL6/J нокаут гена *Tas1r3* сопровождался уменьшением числа островков Лангерганса и их среднего размера, а также уровня апоптоза, таким образом, отсутствие T1R3 приводило к дистрофии островковой ткани и было сопряжено с развитием патологических изменений, сопоставимых с развитием Д2Т и ожирения у человека [5]. Блокатор T1R1/T1R3 лактизол также подавлял активацию mTORC1 аминокислотами у клеток HeLa. У *Tas1r3*-ген-нокаутных мышей в скелетной и сердечной мышце была снижена степень

фосфорилирования mTOR [159]. Оперативное включение рецептора аминокислот T1R1/T1R3 с помощью siRNA в культурах клеток (MIN6, HeLa, H9C2) снижало собственную активность mTOR и его способность реагировать на присутствие аминокислот в среде. При этом на 50% сокращалось содержание инсулина в клетках MIN6 и усиливалась аутофагия [159]. В клетках других тканей также показана роль T1R-опосредованной рецепции. Так, T1R1/T1R3 потенцирует фосфорилирование mTOR в культуре мышечных эпителиальных клеток молочных желез HC11 [157].

Данные о ферментативном каскаде, связывающем мембранные белки T1R с регулируемым внеклеточными сигналами киназами 1 и 2 (ERK1/2) и mTORC1, различаются в зависимости от объекта исследования. В культуре  $\beta$ -клеток MIN6 T1R1/T1R3 посредством белков Gs и Gq (но не Gi) и увеличения концентрации  $Ca^{2+}$  активируются ERK1/2, которые стимулируют транскрипцию гена инсулина в ответ на присутствие нутриентов. Однако этот каскад не взаимодействует с mTORC1, механизм активации которого через T1R1/T1R3 рецепторы не ясен [158, 159]. В отличие от клеток MIN6 в культуре мышечных миобластов C2C12 стимуляция несколькими аминокислотами, прежде всего метионином, сигнального каскада T1R1/T1R3 – PLC $\beta$  –  $Ca^{2+}$  – ERK1/2 приводит к активации mTORC1 (см. рис. 1, Г) [168].

#### *Участие T1r в регуляции роста и дифференцировки жировой ткани*

Данные о роли T1R в осуществлении липидного обмена в целом немногочисленны, однако они свидетельствуют, что рецепторный белок T1R3 не только экспрессируется в жировой ткани, но имеет определенное функциональное значение. На фоне нормокалорийной диеты у мышей линий C57BL/6 и мышечной модели ожирения *db/db* экспрессия гена *Tas1r3* была выявлена в адипоцитах из разных отделов жировой ткани [92, 135]. Интересно, что, по данным Masubuchi и соавт. [92], в зрелых адипоцитах мыши экспрессия *Tas1r3* в десятки раз превышает таковую во вкусовых сосочках языка и в сотни раз превосходит экспрессию *Tas1r2*, что указывает на присутствие гомодимера T1R3/T1R3 как активной формы рецептора или гетеродимера с иным типом GPCR, например CasR. При этом в жировых клетках белок T1R3 связан с  $G_{\alpha s}$ -субъединицей G-белка, а не с  $\alpha$ -гаструдином, как во вкусовых рецепторах на языке.

Исследования на культуре эмбриональных фибробластов мыши (3T3-L1), способных дифференцироваться в адипоциты, и мезенхимальных стволовых клетках из уха мыши (eMSC) выявило в них экспрессию *Tas1r2* и *Tas1r3*, которая увеличивалась при дифференцировке в зрелые адипоциты [135].

По данным Simon и соавт. [134, 135] ацесульфам калия и сахарин способствуют дифференцировке в адипоциты этих клеток, а также стромальных васкулярных клеток подкожного жира человека (hSVC).

В то же время другая группа авторов показала негативный эффект сукралозы и сахарина на дифференцировку 3T3-L1 и накопление в них триглицеридов. Этот эффект блокировался сайленсингом *Tas1r3* с помощью ShRNA [92, 93]. Предполагаемый механизм такой негативной регуляции связывают с активацией через T1R3/T1R3 белка  $G_{\alpha s}$ , который стимулирует разборку микротрубочек пока не установленным независимым от цАМФ путем (возможно, напрямую через ГТФазу), что вызывает активацию RhoA/ROCK каскада, подавляющего адипогенные транскрипционные факторы Akt и FoxO1 (см. рис. 1, Д) [93].

Имеющиеся данные *in vivo* немногочисленны и отчасти противоречивы. Так, была выявлена устойчивость T1R3-нокаутных животных к ожирению, вызванному диетами [50]. При кормлении высококалорийной диетой с повышенным содержанием сахарозы у *Tas1r3*-нокаутов замедлялся набор массы тела и жирового депо [50, 82]. По данным Simon и соавт. [134], при кормлении так называемой диетой западного образца, содержащей сахарозу и жиры, мыши с нокаутом гена *Tas1r3* не отличались от дикого типа по массе тела, однако имели меньшую массу жира (по данным магнитной томографии) и размер адипоцитов при общем росте их числа. Нокаут гена *Tas1r2* также приводил к снижению массы жирового депо и уменьшению размера адипоцитов. При этом непрямые калориметрические измерения не выявили заметных сдвигов в метаболизме жиров и углеводов. Не было отмечено сдвигов в уровне инсулина, свободных жирных кислот в крови и потреблении диеты. Таким образом, наличие гена *Tas1r2* у мышей дикого типа либо никак не влияло на дифференцировку адипоцитов, либо действительно ограничивало дифференцировку преадипоцитов, но в то же время способствовало накоплению триглицеридов за счет угнетения липолиза, или же нокаут гена способствовал их дифференцировке, но мешал накоплению липидов [134]. Simon и соавт. [134] предположили, что основное взаимодействие T1R3-опосредованной рецепции с адипогенезом и липолизом происходит за пределами жировой ткани, в частности, на уровне ферментативных и гуморальных регуляторных процессов в поджелудочной железе и в эпителии кишечника. Стоит отметить разницу в экспериментальных подходах, на которых основаны приведенные выводы. В исследованиях на культуре клеток использовались низкокалорийные сахарозаменители, а в опытах *in vivo* – натуральные сахара, влияние которых на метаболизм может реализовываться через большее число путей.

В ряде исследований дефицит рецепторного белка T1R3 приводил к нарушению липидного обмена при питании стандартной диетой. Хотя делеция T1R2 или T1R3 не влияла на массу тела у животных, получавших нормокалорийную диету [3, 151], у мышей линии B6-*Tas1r3KO* наблюдались как увеличение массы окологонадного жира, так и заметные проявления дислипидемии, включая повышение уровня триглицеридов в плазме крови в сытом и голодном состоянии, и повышение концентрации глицерина у сытых особей [3]. Это в целом согласуется с *in vitro* – данными Masubuchi и соавт. [92]. Можно предположить, что потребление высококалорийной диеты у мышей дикого типа приводит к активации как T1R-зависимых, так и независимых механизмов роста жировых отложений, что снимает кажущееся противоречие между данными двух исследовательских групп.

Вызывает интерес обратная связь между накоплением жира и вкусовой чувствительностью. В настоящее время доказано влияние лептина, секретируемого адипоцитами, на вкусовую чувствительность [109]. С помощью методики пэтч-кламп было показано, что лептин вызывает гиперполяризацию вкусовых клеток за счет действия на лептиновые рецепторы ObRb, что приводит к выходу K<sup>+</sup> из клетки. Такая реакция отсутствовала у db/db мышей с дефицитом лептинового рецептора [67]. Регистрация импульсной активности *Chorda tympani* (основного вкусового нерва) также выявила торможение нейрональной реакции на сахарозу и сахарин после добавления в среду лептина, что отражает уменьшение чувствительности в сытом состоянии [67].

#### *T1r в костной ткани*

В настоящее время костная ткань рассматривается не только как опорная и защитная структура, но как важный участник регуляции гомеостаза, прежде всего как крупнейшее депо кальция, а также гормональный регулятор дифференцировки β-клеток, выделения инсулина и чувствительности адипоцитов к инсулину [21, 127]. Гормон остеобластов, остеокальцин, синтезируется под действием инсулина и переходит в активную форму через декарбоксилирование при резорбции кости остеокластами, которая, в свою очередь, происходит под контролем лептина, выделяемого адипоцитами. Все это хорошо объясняет остеопороз, наблюдающийся при ожирении. В общем виде эффект лептина реализуется в ЦНС через серотонин и *Htr2c*-экспрессирующие нейроны вентромедиального гипоталамуса, которые, активируя симпатическую нервную систему, стимулируют через β2-адренорецепторы экспрессию в остеобластах RankL, основного фактора дифференцировки остеокластов [22]. В связи с этим привлекают внимание первые данные о влиянии генов *Tas1r3* и *Tas1r2* на

костную ткань, которое выразилось в увеличении минеральной плотности ткани, толщины трабекул и толщины компактного вещества берцовой кости у *Tas1r3* и *Tas1r2* ген-нокаутных животных. Дополнительно у *Tas1r2* ген-нокаутов отмечено уменьшение объема желтого костного мозга и числа адипоцитов и ослабление резорбции кости [39, 75, 134]. Поскольку экспрессия *Tas1r3* выявлена в остеокластах и недифференцированных стромальных клетках костного мозга [39], предстоит выяснить, какую роль в данном процессе играют лептин и инсулин, а какую собственная *Tas1r3*-рецепторная функция костной ткани.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За два десятилетия после обнаружения вкусовых G-белок-связанных рецепторов семейства T1R за пределами ротовой полости сложилось достаточно полное представление об их роли в системной и местной регуляции всасывания сахаров и аминокислот, запасании высококалорийных метаболитов, а также клеточной пролиферации. Реагируя на присутствие нутриентов во внеклеточной среде, рецепторы семейства T1R в метаболически активных тканях действуют вместе с универсальным механизмом метаболической детекции глюкозы, связанным с активностью глюкокиназы и АТФ-чувствительных K<sup>+</sup> каналов.

В настоящее время получены многочисленные подтверждения эффективности T1R рецепции в модуляции секреторной активности β-клеток поджелудочной железы, что является следствием прямого присутствия T1R1–3 в их мембранах, а также опосредовано T1R-зависимым усилением секреции GLP-1 в эндокринных клетках слизистой оболочки кишечника. Кроме того, показана непосредственная роль рецепторов в обеспечении жизнедеятельности секреторных клеток островковой ткани поджелудочной железы.

В кишечнике активность рецепторов T1 сопряжена с ускорением всасывания моносахаридов за счет усиления экспрессии переносчиков SGLT1 и GLUT2. Кроме того, их стимуляция в энтероэндокринных клетках способствует продукции инкретинов (GLP-1, GIP). Белок T1R3 обильно экспрессируется в жировой ткани и, как показали опыты с T1R3 нокаутными животными, имеет определенное значение в ограничении адипогенеза.

Активация рецепторов семейства T1R в различных тканях реализуется через их взаимодействие с несколькими внутриклеточными ферментными каскадами. При этом T1R-зависимая рецепция претерпела в ряде таксонов позвоночных существенную адаптацию в связи с псевдогенезацией и полиморфными изменениями генов, кодирующих белки T1R1–3, результатом которой, помимо изменений вкусовой чувствительности и характера

питания, стали изменения инсулинорезистентности, толерантности к глюкозе и обмена липидов.

В настоящее время на фоне эпидемического распространения заболеваний, связанных с избыточным потреблением сладких углеводов, и широкого использования некалорийных сахарозаменителей становится очевидной ценность трансляционных исследований, опирающихся на фундаментальные данные о T1R-опосредованной рецепции. С одной стороны, стимуляция рецептора T1R2/T1R3 или T1R3/T1R3 усиливает продукцию инсулина и оказывает гипогликемическое действие. С другой стороны, их избыточная активность может в долгосрочной перспективе привести к неблагоприятным последствиям, а инактивация, напротив, может ослабить ожирение, гиперинсулинемию и печеночный стеатоз. Кроме того, инактивация T1R1/T1R3 может угнетать mTOR сигнальный комплекс, тем самым блокировать рост опухоли и препятствовать развитию дегенеративных заболеваний. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования, которые обоснуют выбор стратегии воздействия на T1R, приводящей к положительному терапевтическому эффекту.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН № 1021062411784-3-3.1.8.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Муровец В.О., Бачманов А.А., Травников С.В. и др. Участие рецепторного белка TAS1R3 в регуляции обмена глюкозы у мышей при разных уровнях гликемии // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2014. Т. 50. № 4. С. 296–304.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093014040061>
2. Муровец В.О., Лукина Е.А., Золотарев В.А. Влияние полиморфизма гена Tas1r3 на предпочтение и потребление сахарозы и низкокалорийных сахарозаменителей у межлинейных гибридов мышей первого поколения // Журн. эвол. биохим. и физиол. 2018. Т. 54. № 3. С. 194–204.
3. Муровец В.О., Созонтов Е.А., Андреева Ю.В. и др. Влияние рецепторного белка T1R3 на глюконеогенез и жировой обмен у мышей // Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2016. Т. 102. С. 668–679.
4. Муровец В.О., Созонтов Е.А., Андреева Ю.В. и др. Влияние полиморфизма гена Tas1r3 на метаболизм глюкозы и липидов у межлинейных гибридов мышей // Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2018. Т. 104. № 3. С. 338–350.
5. Муровец В.О., Созонтов Е.А., Зачепило Т.Г. Влияние вкусового рецепторного белка T1R3 на развитие островковой ткани поджелудочной железы мыши // Докл. Акад. наук. 2019. Т. 484. № 1. С. 117–120.  
<https://doi.org/10.31857/S0869-5652484117-120>
6. Муровец В.О., Лукина Е.А., Золотарев В.А. Сладкий вкус: от рецепции к восприятию // Успехи физиол. наук. 2023. Т. 54. № 4. С. 72–92.  
<https://doi.org/10.31857/S0301179823040057>
7. Antinucci M., Rizzo D. A matter of taste: Lineage-specific loss of function of taste receptor genes in vertebrates // Front. Mol. Biosci. 2017. V. 4. P. 81.  
<https://doi.org/10.3389/fmolb.2017.00081>
8. Bachmanov A. A., Bosak N. P., Floriano W. B. et al. Genetics of sweet taste preferences // Flavour and Fragr. J. 2011. V. 26. P. 286–294.  
<https://doi.org/10.1002/ffj.2074>
9. Bachmanov A. A., Bosak N. P., Lin C. et al. Genetics of Taste Receptors // Curr. Pharm. Des. 2014. V. 20. P. 2669–2683.  
<https://doi.org/10.2174/13816128113199990566>
10. Bachmanov A.A., Beauchamp G.K. Taste receptor genes // Annu. Rev. Nutr. 2007. V. 27. P. 389–414.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.26.061505.111329>
11. Bachmanov A.A., Li X., Reed D.R. et al. Positional cloning of the mouse saccharin preference (Sac) locus // Chem. Senses. 2001. V. 26. Iss. 7. P. 925–933.  
<https://doi.org/10.1093/chemse/26.7.925>
12. Bachmanov A.A., Reed D.R., Ninomiya Y. et al. Sucrose consumption in mice: major influence of two genetic loci affecting peripheral sensory responses // Mamm. Genome. 1997. V. 8(8). P. 545–548.  
<https://doi.org/10.1007/s003359900500>
13. Bachmanov A.A., Tordoff M.G., Beauchamp G.K. Sweetener preference of C57BL/6ByJ and 129P3/J. mice // Chem. Senses. 2001. V. 26. Iss. 7. P. 905–913.  
<https://doi.org/10.1093/chemse/26.7.905>
14. Balcazar N., Sathyamurthy A., Elghazi L. et al. mTORC1 Activation Regulates  $\beta$ -Cell Mass and Proliferation by Modulation of Cyclin D2 Synthesis and Stability // J. Biol. Chem. 2009.

- V. 284(12). P. 7832–7842.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M807458200>
15. Baldwin M.W., Toda Y., Nakagita T. et al. Evolution of sweet taste perception in hummingbirds by transformation of the ancestral umami receptor // *Science*. 2014. V. 345. Iss. 6199. P. 929–933.  
<https://doi.org/10.1126/science.1255097>
  16. Batchelor D.J., Al-Rammahi M., Moran A.W. et al. Sodium/glucose cotransporter-1, sweet receptor, and disaccharidase expression in the intestine of the domestic dog and cat: two species of different dietary habit // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011. V. 300(1). P. R67–75. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00262.2010>
  17. Bathina S., Faniyan T.S., Bainbridge L. et al. Normal  $\beta$ -Cell Glut2 expression is not required for regulating glucose-stimulated insulin secretion and systemic glucose homeostasis in mice // *Biomolecules*. 2023. V. 13(3). P. 540.  
<https://doi.org/10.3390/biom13030540>
  18. Butler A.E., Janson J., Soeller W.C. et al. Increased  $\beta$ -Cell apoptosis prevents adaptive increase in  $\beta$ -cell mass in mouse model of type 2 diabetes // *Diabetes*. 2003. V. 52(9). P. 2304–2314.  
<https://doi.org/10.2337/diabetes.52.9.2304>
  19. Cai W., He S., Liang X.F. et al. Methylation of T1R1 gene in the vegetarian adaptation of grass carp *Ctenopharyngodon idella* // *Sci Rep*. 2018. V. 8(1). P. 6934.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25121-4>
  20. Calvo S.S.-C., Egan J.M. The endocrinology of taste receptors // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015. V. 11(4). P. 213–227.  
<https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.7>
  21. Cappariello A., Ponzetti M., Rucci N. The “soft” side of the bone: unveiling its endocrine functions // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 2016. V. 28(1). P. 5–20.  
<https://doi.org/10.1515/hmbci-2016-0009>
  22. Chamouni A., Schreiweis C., Oury F. Bone, brain & beyond // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2015. V. 16. P. 99–113.  
<https://doi.org/10.1007/s11154-015-9312-5>
  23. Chandrashekar J., Hoon M.A., Ryba, N. et al. The receptors and cells for mammalian taste // *Nature*. 2006. V. 444. P. 288–294.  
<https://doi.org/10.1038/nature05401>
  24. Chen K., Yan J., Suo Y. et al. Nutritional status alters saccharin intake and sweet receptor mRNA expression in rat taste buds // *Brain Res.* 2010. V. 1325. P.53–62.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.02.026>
  25. Clapp T.R., Trubey K.R., Vandenbeuch A. et al. Tonic activity of Galpha-gustducin regulates taste cell responsivity // *FEBS Lett.* 2008. V. 582. P. 3783–3787.  
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.10.007>
  26. Colsoul B., Schraenen A., Lemaire K. et al. Loss of high-frequency glucose-induced Ca<sup>2+</sup> oscillations in pancreatic islets correlates with impaired glucose tolerance in Trpm5<sup>-/-</sup> mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 5208–5213.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0913107107>
  27. Craig T. J., Ashcroft F. M., Proks P. How ATP inhibits the open K(ATP) channel // *J. Gen. Physiol.* 2008. V. 132 (1). P. 131–144.  
<https://doi.org/10.1085/jgp.200709874>
  28. Damak S., Rong M., Yasumatsu K. et al. Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3 // *Science*. 2003. V. 301. P. 850–853.  
<https://doi.org/10.1126/science.1087155>
  29. Daniel H., Zietek T. Taste and move: Glucose and peptide transporters in the gastrointestinal tract // *Exp. Physiol.* 2015. V. 100(12). P. 1441–1450. <https://doi.org/10.1113/EP085029>
  30. Delay E.R., Hernandez N.P., Bromley K. et al. Sucrose and monosodium glutamate taste thresholds and discrimination ability of T1R3 knockout mice // *Chem. Senses*. 2006. V. 31(4). P. 351–357.  
<https://doi.org/10.1093/chemse/bjj039>
  31. Dias A.G., Eny K.M., Cockburn M. et al. Variation in the TAS1R2 gene, sweet taste perception and intake of sugars // *J. Nutrigenet. Nutrigenomics*. 2015. V. 8. №. 2. P. 81–90.  
<https://doi.org/10.1159/000430886>
  32. Diez-Sampedro A., Hirayama B.A., Osswald C. et al. A glucose sensor hiding in a family of transporters // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 11753–11758.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1733027100>
  33. Ding L., Yin Y., Han L. et al. TSC1-mTOR signaling determines the differentiation of islet cells // *J. Endocr.* 2017. V. 232(1). P. 59–70.  
<https://doi.org/10.1530/JOE-16-0276>
  34. Dotson C.D., Geraedts M.C., Munger S.D. Peptide regulators of peripheral taste function // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2013. V. 24. P. 232–239.  
<https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.01.004>

35. *Drucker D.J.* Incretin action in the pancreas: potential promise, possible perils, and pathological pitfalls // *Diabetes*. 2013. V. 62(10). P. 3316–3323. <https://doi.org/10.2337/db13-0822>
36. *DuBois G.E.* Molecular mechanism of sweetness sensation // *Physiol. Behav.* 2016. V. 164. P. 453–463. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.03.015>
37. *Duca F.A., Covasa M.* Current and emerging concepts on the role of peripheral signals in the control of food intake and development of obesity // *Br. J. Nutr.* 2012. V. 1. P. 16. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000529>
38. *Dutta Banik D., Martin L.E., Freichel M. et al.* TRPM4 and TRPM5 are both required for normal signaling in taste receptor cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2018. V. 115(4). P. E772–E781. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.1718802115>
39. *Eaton M.S., Weinstein N., Newby J.B. et al.* Loss of the nutrient sensor TAS1R3 leads to reduced bone resorption // *J. Physiol. Biochem.* 2018. V. 74(1). P. 3–8. <https://doi.org/10.1007/s13105-017-0596-7>
40. *Elson A.E., Dotson C.D., Egan J.M., Munger S.D.* Glucagon signaling modulates sweet taste responsiveness // *FASEB J.* 2010. V. 24. P. 3960–3969. <https://doi.org/10.1096/fj.10-158105>
41. *Eny K.M., Wolever T.M., Corey P.N., El-Sohemy A.* Genetic variation in TAS1R2 (Ile191Val) is associated with consumption of sugars in overweight and obese individuals in 2 distinct populations // *Am. J. Clin. Nutr.* 2010. V. 92. Iss. 6. P. 1501–1510. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29836>
42. *Eriksson L., Esberg A., Haworth S., Holgerson P.L., Johansson I.* Allelic variation in taste genes is associated with taste and diet preferences and dental caries // *Nutrients*. 2019. V. 11. P. 1491. <https://doi.org/10.3390/nu11071491>
43. *Fioramonti X., Lorsignol A., Taupignon A. et al.* A new ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel-independent mechanism is involved in glucose-excited neurons of mouse arcuate nucleus // *Diabetes*. 2004. V. 53(11). P. 2767–2775. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.11.2767>
44. *Fuller J.L.* Single-locus control of saccharin preference in mice // *J Hered.* 1974. V. 65(1). P. 33–36. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a108452>
45. *Fushan A.A., Simons C.T., Slack J.P., Drayna D.* Association between common variation in genes encoding sweet taste signaling components and human sucrose perception // *Chem. Senses*. 2010. V. 35. Iss. 7. P. 579–592. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjq063>
46. *Fushan A.A., Simons C.T., Slack J.P. et al.* Allelic polymorphism within the TAS1R3 promoter is associated with human taste sensitivity to sucrose // *Current Biol.* 2009. V. 19(15). P. 1288–1293. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.06.015>
47. *Garcia-Bailo B., Toguri C., Eny M. et al.* Genetic variation in taste and its influence on food selection // *OMICS: A J. of Integrative Biol.* 2009. V. 13(1). P. 69–80. <https://doi.org/10.1089/omi.2008.0031>
48. *Gembal M., Gilon P., Henquin J.C.* Evidence that glucose can control insulin release independently from its action on ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in mouse  $\beta$ -cells // *J. Clin. Investig.* 1992. V. 89(4). P. 1288–1295. <https://doi.org/10.1172/JCI115714>
49. *Glendinning J.I., Chyou S., Lin I.* Initial licking responses of mice to sweeteners: effects of Tas1r3 polymorphisms // *Chem. Senses*. 2005. V. 30. P. 601–614. <https://doi.org/10.1093/chemse/bji054>
50. *Glendinning J.I., Gillman J., Zamer H. et al.* The role of T1r3 and Trpm5 in carbohydrate-induced obesity in mice // *Physiol. Behav.* 2012. V. 107(1). P. 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.05.023>
51. *Gouyon F., Caillaud L., Carriere V. et al.* Simple-sugar meals target GLUT2 at enterocyte apical membranes to improve sugar absorption: a study in GLUT2-null mice // *J. Physiol.* 2003. V. 552. P. 823–832. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049247>
52. *Greenberg D., McCaffery J., Potack J.Z. et al.* Differential satiating effects of fats in the small intestine of obesity-resistant and obesity-prone rats // *Physiol. Behav.* 1999. V. 66. P. 621–626. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(98\)00336-9](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00336-9)
53. *Habib A.M., Richards P., Rogers G.J. et al.* Co-localisation and secretion of glucagon-like peptide 1 and peptide YY from primary cultured human L cells // *Diabetologia*. 2013. V. 56. P. 1413–1416. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2887-z>

54. Hamano K., Nakagawa Y., Ohtsu Y. et al. Lactisole inhibits the glucose-sensing receptor T1R3 expressed in mouse pancreatic  $\beta$ -cells // *J. Endocrinol.* 2015. V. 226. P. 57–66. <https://doi.org/10.1530/JOE-15-0102>
55. Herman M.A., Kahn B.B. Glucose transport and sensing in the maintenance of glucose homeostasis and metabolic harmony // *J. Clin. Investig.* 2006. V. 116(7). P. 1767–1775. <https://doi.org/10.1172/JCI29027>
56. Herness M.S. Vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity in rodent taste cells // *Neurosci.* 1989. V. 33. P. 411–419. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90220-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90220-0)
57. Herness S., Zhao F.L. The neuropeptides CCK and NPY and the changing view of cell-to-cell communication in the taste bud // *Physiol. Behav.* 2009. V. 97. P. 581–591. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.043>
58. Herrera Moro Chao D., Argmann C., Van Eijk M. et al. Impact of obesity on taste receptor expression in extra-oral tissues: Emphasis on hypothalamus and brainstem // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 29094. <https://doi.org/10.1038/srep29094>
59. Hiriart M., Aguilar–Bryan L. Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic beta–cell // *Am. J. Physiol. Endocrinol.* 2008. V. 295(6). P. 1298–1306. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90493.2008>
60. Hubbard K.B., Hepler J.R. Cell signalling diversity of the Gqalpha family of heterotrimeric G proteins // *Cell Signal.* 2006. V. 18(2). P. 135–150. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2005.08.004>
61. Inoue M., Glendinning J. I., Theodorides M. L. et al. Allelic variation of the Tas1r3 taste receptor gene selectively affects taste responses to sweeteners: evidence from 129.B6-Tas1r3 congenic mice // *Physiol. Genomics* 2007. V. 32. Iss. 1. P. 82–94. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00161.2007>
62. Inoue M., Reed D.R., Li X. et al. Allelic variation of the *Tas1r3* taste receptor gene selectively affects behavioral and neural taste responses to sweeteners in the F2 hybrids between C57BL/6ByJ and 129P3/J mice // *J. Neurosci.* 2004. V. 24(9). P. 2296–2303. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4439-03.2004>
63. Ishimaru Y. Molecular mechanisms of taste transduction in vertebrates // *Odontology.* 2009. V. 97. P. 1–7. <https://doi.org/10.1007/s10266-008-0095-y>
64. Jang H.J., Kokrashvili Z., Theodorakis M.J. et al. Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104(38). P. 15069–15074. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706890104>
65. Jiang P., Josue J., Li X., et al. Major taste loss in carnivorous mammals // *PNAS.* 2012. V. 103. Iss. 13. P. 4956–4961. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118360109>
66. Katsuda Y., Ohta T., Miyajima K. et al. Diabetic complications in obese type 2 diabetic rat models // *Exp. anim.* 2014. V. 63(2). P. 121–132. <https://doi.org/10.1538/expanim.63.121>
67. Kawai K., Sugimoto K., Nakashima K., Miura H., Ninomiya Y.C. Leptin as a modulator of sweet taste sensitivities in mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 2000. V. 97. P. 11044–11049. <https://doi.org/10.1073/pnas.190066697>
68. Kellett G.L., Brot-Laroche E. Apical GLUT2: A Major Pathway of Intestinal Sugar Absorption // *Diabetes.* 2005. V. 54(10). P. 3056–3062. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.10.3056>
69. Kellett G.L., Brot-Laroche E., Mace O.J. et al. Sugar absorption in the intestine: the role of GLUT2 // *Annu. Rev. Nutr.* 2008. V. 28. P. 35–54. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155518>
70. Kellett G.L., Helliwell P. A. The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT2 to the brush-border membrane // *Biochem. J.* 2000. V. 350. P. 155–162. PMID: PMC1221237
71. Kim U.K., Wooding S., Riaz N. et al. Variation in the human TAS1R Taste receptor genes // *Chem. Senses.* 2006. V. 31. Iss. 7. P. 599–611. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjj065>
72. Kojima I., Nakagawa Y. The role of the sweet taste receptor in enteroendocrine cells and pancreatic  $\beta$ -cells // *Diabetes Metab. J.* 2011. V. 35(5). P. 451–457. <https://doi.org/10.4093/dmj.2011.35.5.451>
73. Kojima I., Nakagawa Y., Hamano K. et al. Glucose-sensing receptor T1R3: A new signaling receptor activated by glucose in pancreatic  $\beta$ -cells

- // Biol Pharm Bull. 2015. V. 38(5). P. 674–679.  
<https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00895>
74. *Kojima I., Nakagawa Y., Ohtsu Y. et al.* Sweet taste-sensing receptors expressed in pancreatic  $\beta$ -cells: sweet molecules act as biased agonists // *Endocrinology and Metab.* 2014. V. 29. P. 12–19.  
<http://doi.org/10.3803/EnM.2014.29.1.12>
  75. *Kokabu S., Lowery J.W., Toyono T. et al.* On the emerging role of the taste receptor type 1 (T1R) family of nutrient-sensors in the musculoskeletal system // *Molecules.* 2017. V. 22. P. 469.  
<https://doi.org/10.3390/molecules22030469>
  76. *Kokrashvili Z., Mosinger B., Margolskee R.F.* T1R3 and alpha-gustducin in gut regulate secretion of glucagon-like peptide-1 // *Ann. NY Acad. Sci.* 2009a. V. 1170. P. 91–94.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04485.x>
  77. *Kokrashvili Z., Mosinger B., Margolskee R.F.* Taste signaling elements expressed in gut enteroendocrine cells regulate nutrient-responsive secretion of gut hormones // *Am. J. Clin. Nutr.* 2009. V. 90(3). P. 822–825.  
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462T>
  78. *Kokrashvili Z., Yee K.K., Ilegems E. et al.* Endocrine taste cells // *Br. J. Nutr.* 2014. V. 111(1). P. 23–29.  
<https://doi.org/10.1017/s0007114513002262>
  79. *Kolesnikov S.S., Margolskee R.F.* A cyclic-nucleotidesuppressible conductance activated by transducin in taste cells // *Nature.* 1995. V. 376(6535). P. 85–88.  
<https://doi.org/10.1038/376085a0>
  80. *Kyriazis G.A., Smith K.R., Tyrberg B. et al.* Sweet taste receptors regulate basal Insulin secretion and contribute to compensatory insulin hypersecretion during the development of diabetes in male mice // *Endocrinology.* 2014. V. 155(6). P. 2112–2121.  
<https://doi.org/10.1210/en.2013-2015>
  81. *Kyriazis G.A., Soundarapandian M.M., Tyrberg B.* Sweet taste receptor signaling in beta cells mediates fructose-induced potentiation of glucose-stimulated insulin secretion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109(8). P. 524–532.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1115183109>
  82. *Larsson M.H., Håkansson P., Jansen F.P. et al.* Ablation of TRPM5 in mice results in reduced body weight gain and improved glucose tolerance and protects from excessive consumption of sweet palatable food when wed high caloric diets // *PLoS One.* 2015. V. 10(9). P. e0138373.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138373>
  83. *Li X., Inoue M., Reed D. R., Huque T. et al.* High-resolution genetic mapping of the saccharin preference locus (Sac) and the putative sweet taste receptor (T1R1) gene (Gpr70) to mouse distal Chromosome 4 // *Mamm. Genome.* 2001. V. 12. № 1. P. 13–16.  
<https://doi.org/10.1007/s003350010236>
  84. *Linnemann A.K., Baan M., Davis D.B.* Pancreatic b-cell proliferation in obesity // *Adv. Nutr.* 2014. V. 5(3). P. 278–288.  
<https://doi.org/10.3945/an.113.005488>
  85. *Liu S., Manson J.E.* Dietary carbohydrates, physical inactivity, obesity, and the 'metabolic syndrome' as predictors of coronary heart disease // *Curr. Opin. Lipidol.* 2001. V. 12(4). P. 395–404.  
<https://doi.org/10.1097/00041433-200108000-00005>
  86. *Mace O.J., Affleck J., Patel N. et al.* Sweet taste receptors in rat small intestine stimulate glucose absorption through apical GLUT2 // *J. Physiol.* 2007a. V. 582. P. 379–392.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.130906>
  87. *Mace O.J., Morgan E.L., Affleck J.A. et al.* Calcium absorption by Cav1.3 induces terminal web myosin II phosphorylation and apical GLUT2 insertion in rat intestine // *J. Physiol.* 2007. V. 580. P. 605–616.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.124784>
  88. *Maedler K., Schumann D.M., Schulthess F. et al.* Aging correlates with decreased beta-cell proliferative capacity and enhanced sensitivity to apoptosis: a potential role for Fas and pancreatic duodenal homeobox-1 // *Diabetes.* 2006. V. 55. P. 2455–2462.  
<https://doi.org/10.2337/db05-1586>
  89. *Margolskee R. F.* Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 1–4.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.R100054200>
  90. *Margolskee R.F., Dyer J., Kokrashvili Z. et al.* T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter 1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 38. P. 15075–15080.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0706678104>
  91. *Maruyama Y., Pereira E., Margolskee R.F., Chaudhari N., Roper S.D.* Umami responses in mouse taste cells indicate more than one receptor

- // J. Neurosci. 2006. V. 26. P. 2227–2234.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4329-05.2006>
92. *Masubuchi Y., Nakagawa Y., Ma J. et al.* A novel regulatory function of sweet taste-sensing receptor in adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells // PLoS ONE. 2013. V. 8. P. e54500.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054500>
  93. *Masubuchi Y., Nakagawa Y., Medina J. et al.* Correction: T1R3 homomeric sweet taste receptor regulates adipogenesis through Gas-mediated microtubules disassembly and Rho activation in 3T3-L1 cells // PLoS One. 2017. V. 12(7). P. e0181293.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181293>
  94. *McCaughey S.A.* The taste of sugars // Neurosc. and Biobehavioral Reviews. 2008. V. 32(5). P. 1024–1043.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.002>
  95. *Medina A., Nakagawa Y., Ma J. et al.* Expression of the glucose-sensing receptor T1R3 in pancreatic islet: changes in the expression levels in various nutritional and metabolic states // Endocr. J. 2014. V. 61(8). P. 797–805.  
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej14-0221>
  96. *Meier J.J., Nauck M.A.* Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in biology and pathology // Diabetes Metab. Res. Rev. 2005. V. 21. P. 91–117.  
<https://doi.org/10.1002/dmrr.538>
  97. *Meijer A.J., Lorin S., Blommaert E.F. et al.* Regulation of autophagy by amino acids and mTOR-dependent signal transduction // Amino Acids. 2015. V. 47. P. 2037–2063.  
<https://doi.org/10.1007/s00726-014-1765-4>
  98. *Miki T., Liss B., Minami K. et al.* ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in the hypothalamus are essential for the maintenance of glucose homeostasis // Nature Neurosci. 2001. V. 4(5). P. 507–512.  
<https://doi.org/10.1038/87455>
  99. *Morgan E.L., Mace O.J., Affleck J.A. et al.* Apical GLUT2 and Cav1.3: regulation of rat intestinal glucose and calcium absorption // J. Physiol. 2007. V. 580. P. 593–604.  
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.124768>
  100. *Morgan E.L., Mace O.J., Helliwell P. A. et al.* A role for Cav1.3 in rat intestinal calcium absorption // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. V. 312. P. 487–493.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.10.138>
  101. *Mori H., Inoki K., Opland D. et al.* Critical roles for the TSC-mTOR pathway in beta-cell function // Am. J. Physiol. 2009. V. 297(5). P. 1013–1022.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00262.2009>
  102. *Mueckler M., Thorens B.* The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters // Mol. Asp. Med. 2013. V. 34. P. 121–138.  
<https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.07.001>
  103. *Mueller K.L., Hoon M.A., Erlenbach I. et al.* The receptors and logic for bitter taste // Nature. 2005. V. 434. P. 225–229.  
<https://doi.org/10.1038/nature03352>
  104. *Murovets V.O., Bachmanov A.A., Zolotarev V.A.* Impaired glucose metabolism in mice lacking the Tas1r3 taste receptor gene. PLoS ONE. 2015. V. 10. № 6. P. e0130997.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130997>
  105. *Murovets V.O., Lukina E.A., Sozontov E.A. et al.* Allelic variation of the Tas1r3 taste receptor gene affects sweet taste responsiveness and metabolism of glucose in F1 mouse hybrids // PLoS ONE. 2020. V. 15. № 7. P. e0235913.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235913>
  106. *Nakagawa Y., Nagasawa M., Mogami H. et al.* Multimodal function of the sweet taste receptor expressed in pancreatic  $\beta$ -cells: Generation of diverse patterns of intracellular signals by sweet agonists // Endocr. J. 2013. V. 60(10). P. 1191–1206.  
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej13-0282>
  107. *Nakagawa Y., Nagasawa M., Yamada S. et al.* Sweet taste receptor expressed in pancreatic  $\beta$ -cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion // PLoS ONE. 2009. V. 4(4). P. e5106.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005106>
  108. *Nakagawa Y., Ohtsu Y., Nagasawa M. et al.* Glucose promotes its own metabolism by acting on the cell-surface glucose-sensing receptor T1R3 // Endocr. J. 2014. V. 61. P. 119–131. <https://doi.org/10.1507/endocrj.ej13-0431>
  109. *Nakamura Y., Sanematsu K., Ohta R. et al.* Diurnal variation of human sweet taste recognition thresholds is correlated with plasma leptin levels // Diabetes. 2008. V. 57. P. 2661–2665. <https://doi.org/10.2337/db07-1103>
  110. *Nelson G., Hoon M.A., Chandrashekar J. et al.* Mammalian sweet taste receptors // Cell. 2001. V. 106. P. 381–390.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00451-2](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00451-2)
  111. *Nie, Y., Vignes, S., Hobbs, J. R. et al.* Distinct contributions of T1R2 and T1R3 taste receptor subunits to the detection of sweet stimuli //

- Curr. Biol. 2005. V. 15. P. 1948–1952.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.09.037>
112. *O'Brien P., Hewett R., Corpe C.* Sugar sensor genes in the murine gastrointestinal tract display a cephalocaudal axis of expression and a diurnal rhythm // *Physiol. Genomics*. 2018. V. 50. P. 448–458.  
<https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00139.2017>
113. *O'Malley D., Reimann F., Simpson A.K., Gribble F.M.* Sodium-coupled glucose cotransporters contribute to hypothalamic glucose sensing // *Diabetes*. 2006. V. 55. № 12. P. 3381–3386.  
<https://doi.org/10.2337/db06-0531>
114. *Orci L., Unger R.H., Ravazzola M. et al.* Reduced b-cell glucose transporter in new onset diabetic BB rats // *J. Clin. Investig.* 1990. V. 86. P. 1615–1622.  
<https://doi.org/10.1172/JCI114883>
115. *Oya M., Suzuki H., Watanabe Y. et al.* Amino acid taste receptor regulates insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cell line MIN6 cells // *Genes to Cells*. 2011. V. 16(5). P. 608–616.  
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2003325>
116. *Polakof S., Soengas J.L.* Evidence of sugar sensitive genes in the gut of a carnivorous fish species // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2013 V. 166(1). P. 58–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2013.07.003>
117. *Raliou M., Wiencis A., Pillias A.M. et al.* Nonsynonymous single nucleotide polymorphisms in human *tas1r1 tas1r3* and *mGluR1* and individual taste sensitivity to glutamate // *Am. J. Clin. Nutr.* 2009. V. 90. P. 789–799.  
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462P>
118. *Ramos-Lopez O., Panduro A., Martinez-Lopez E. et al.* Sweet taste receptor TAS1R2 polymorphism (Val191Val) is associated with a higher carbohydrate intake and hypertriglyceridemia among the population of West Mexico // *Nutrients*. 2016. V. 8(2). P. 101.  
<https://doi.org/10.3390/nu8020101>
119. *Reed D.R., Bachmanov A.A., Tordoff M.G.* Forty mouse strain survey of body composition // *Physiol. Genomics*. 2007. V. 91(5). P. 593–600.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.03.026>
120. *Reed D.R., Li S., Li X. et al.* Polymorphisms in the taste receptor gene (*Tas1r3*) region are associated with saccharin preference in 30 mouse strains // *J. Neurosci.* 2004. V. 24(4). P. 938–946.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1374-03.2004>
121. *Rehfeld J.F.* The origin and understanding of the incretin concept // *Front. Endocrinol.* 2018. V. 9. P. 387.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00387>
122. *Reimann F., Habib A.M., Tolhurst G. et al.* Glucose sensing in L cells: A primary cell study // *C. Met.* 2008. V. 8(6). P. 532–539.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2008.11.002>
123. *Ren X., Zhou L., Terwilliger R. et al.* Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor // *Front. Integr. Neurosci.* 2009. V. 3. P. 12.  
<https://doi.org/10.3389/neuro.07.012.2009>
124. *Robino A., Bevilacqua L., Pirastu N. et al.* Polymorphisms in sweet taste genes (*TAS1R2* and *GLUT2*), sweet liking, and dental caries prevalence in an adult Italian population // *Genes Nutr.* 2015. V. 10. № . P. 485.  
<https://doi.org/10.1007/s12263-015-0485-z>
125. *Roper S.D.* Signal transduction and information processing in mammalian taste buds // *Pflügers Archiv.* 2007. V. 454. P. 759–776. <https://doi.org/10.1007/s00424-007-0247-x>
126. *Rozengurt N., Wu S.V., Chen M.C. et al.* Colocalization of the alpha-subunit of gustducin with PYY and GLP-1 in L cells of human colon // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006. V. 291(5). P. 792–802.  
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00074.2006>
127. *Sabek O.M., Nishimoto S.K., Fraga D. et al.* Osteocalcin effect on human  $\beta$ -Cells mass and function // *Endocrinology*. 2015. V. 156(9). P. 3137–3146.  
<https://doi.org/10.1210/EN.2015-1143>
128. *Sainz E., Cavenagh M.M., LopezJimenez N.D. et al.* The G-protein coupling properties of the human sweet and amino acid taste receptors // *Dev. Neurobiol.* 2007. V. 67. P. 948–959.  
<https://doi.org/10.1002/dneu.20403>
129. *Schermerhorn T.* Normal glucose metabolism in carnivores overlaps with diabetes pathology in non-carnivores // *Front. Endocrinol.* 2013. V. 4. P. 188.  
<https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00188>
130. *Schuit F.C., Huypens P., Heimberg H. et al.* Glucose sensing in pancreatic  $\beta$ -cells: A model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus // *Diabetes*. 2001. V. 50(1). P. 1–11.  
<https://doi.org/10.2337/diabetes.50.1.1>

131. *Sclafani A., Zukerman S., Ackroff K.* Residual Glucose Taste in T1R3 Knockout but not TRPM5 Knockout Mice // *Physiol. Behav.* 2020. V. 222. P. 112945.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112945>
132. *Shahbandi A.A., Choo E., Dando R.* Receptor regulation in taste: can diet influence how we perceive foods? // *J. Multidiscip. Sci. J.* 2018. V. 1. P. 106–115.  
<https://doi.org/10.3390/j1010011>
133. *Sigoillot M., Brockhoff A., Meyerhof W. et al.* Sweet-taste-suppressing compounds: Current knowledge and perspectives of application // *Applied MicroBiol. and Biotechnology.* 2012. V. 96(3). P. 619–630.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-012-4387-3>
134. *Simon B.R., Learman B.S., Parlee S.D. et al.* Sweet taste receptor deficient mice have decreased adiposity and increased bone mass // *PLoS ONE.* 2014. V. 9(1). P. e86454.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086454>
135. *Simon B.R., Parlee S.D., Learman B.S. et al.* Artificial sweeteners stimulate adipogenesis and suppress lipolysis independently of sweet taste receptors // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. P. 32475–32489.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.514034>
136. *Smith K.R., Hussain T., Karimian Azari E. et al.* Disruption of the sugar-sensing receptor T1R2 attenuates metabolic derangements associated with diet-induced obesity // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2016. V. 310(8). P. E688-E698.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00484.2015>
137. *Spielman A.I.* Gustducin and its role in taste // *J. Dent. Res.* 1998. V. 77. P. 539–544.  
<https://doi.org/10.1177/00220345980770040601>
138. *Steensels S., Vancleef L., Depoortere I.* The sweetener-sensing mechanisms of the ghrelin cell // *Nutrients.* 2016. V. 8(12). P. 795.  
<https://doi.org/10.3390/nu8120795>
139. *Steinert R.E., Gerspach A.C., Gutmann H. et al.* The functional involvement of gut-expressed sweet taste receptors in glucose-stimulated secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and peptide YY (PYY) // *Clin. Nutr.* 2011. V. 30(4). P. 524–532.  
<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2011.01.007>
140. *Sternini C., Anselmi L., Rozengurt E.* Enteroendocrine cells: a site of ‘taste’ in gastrointestinal chemosensing // *Current Opinion in Endocrinology Diabetes & Obesity.* 2008. V. 15. P. 73–78.  
<https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3282f43a73>
141. *Straub S.G., Sharp G.W.* Glucose-stimulated signaling pathways in biphasic insulin secretion // *Diabetes/Metab. Research and Reviews.* 2002. V. 18(6). P. 451–463.  
<https://doi.org/10.1002/dmrr.329>
142. *Sutherland K., Young R.L., Cooper N.J. et al.* Phenotypic characterization of taste cells of the mouse small intestine // *Am. J. Physiol. Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2007. V. 292(5). P. 1420–1428.  
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.00504.2006>
143. *Szoke E., Shrayyef M.Z., Messing S. et al.* Effect of aging on glucose homeostasis: accelerated deterioration of beta cell function in individuals with impaired glucose tolerance // *Diabetes Care.* 2008. V. 31(3). P. 539–543.  
<https://doi.org/10.2337/dc07-1443>
144. *Talavera K., Yasumatsu K., Voets T. et al.* Heat activation of TRPM5 underlies thermal sensitivity of sweet taste // *Nature.* 2005. V. 15. P. 1022–1025.  
<https://doi.org/10.1038/nature04248>
145. *Thorens B.* GLUT2 glucose sensing and glucose homeostasis // *Diabetologia.* 2015. V. 58. P. 221–232.  
<https://doi.org/10.1007/s00125-014-3451-1>
146. *Thorens B., Guillam M.T., Beermann F. et al.* Transgenic reexpression of GLUT1 or GLUT2 in pancreatic beta cells rescues GLUT2-null mice from early death and restores normal glucose-stimulated insulin secretion // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 23751–23758.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M002908200>
147. *Thorens B., Weir G.C., Leahy J.L. et al.* Reduced expression of the liver/beta-cell glucose transporter isoform in glucose-insensitive pancreatic beta cells of diabetic rats // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. V. 87. P. 6492–6496.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.87.17.6492>
148. *Thorens B., Wu Y., Leahy J.L. et al.* The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment // *J. Clin. Invest.* 1992. V. 90. P. 77–85.  
<https://doi.org/10.1172/JCI115858>
149. *Tobin V., Le G., M F. et al.* Insulin internalizes GLUT2 in the enterocytes of healthy but not insulin-resistant mice // *Diabetes.* 2008. V.

- 57(3). P. 555–562.  
<https://doi.org/10.2337/db07-0928>
150. *Toda Y., Nakagita T., Hayakawa T. et al.* Two distinct determinants of ligand specificity in T1R1/T1R3 (the umami taste receptor) // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. Iss. 52. P. 36863–36877.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.494443>
151. *Treesukosol Y., Smith K.R., Spector A.C.* The functional role of the T1R family of receptors in sweet taste and feeding // *Physiol. Behav.* 2011. V. 105(1). P. 14–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.030>
152. *Tritschler S., Theis F.J., Lickert H. et al.* Systematic single-cell analysis provides new insights into heterogeneity and plasticity of the pancreas // *Mol. Metab.* 2017. V. 6(9). P. 974–990.  
<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.06.021>
153. *Udagawa H., Hiramoto M., Kawaguchi M. et al.* Characterization of the taste receptor-related G-protein  $\alpha$ -gustducin in pancreatic  $\beta$ -cells // *J. Diabetes Investig.* 2020. V. 11(4). P. 814–822.  
<https://doi.org/10.1111/jdi.13214>
154. *von Molitor E., Riedel K., Krohn M. et al.* An alternative pathway for sweet sensation: Possible mechanisms and physiological relevance // *Pflugers Arch.* 2020. V. 472(12). P. 1667–1691.  
<https://doi.org/10.1007/s00424-020-02467-1>
155. *von Molitor E., Riedel K., Krohn M. et al.* Sweet taste is complex: signaling cascades and circuits involved in sweet sensation // *Front. Hum. Neurosci.* 2021. V. 15. P. 667709.  
<https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.667709>
156. *Wang S.Y., Chi M., Li L. et al.* Studies with GIP/Ins cells indicate secretion by gut K cells is KATP channel independent // *Am. J. Physiol. Endocrinol.* 2003. V. 284. P. 988–1000.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00398.2002>
157. *Wang Y., Liu J., Wu H. et al.* Amino acids regulate mTOR pathway and milk protein synthesis in a mouse mammary epithelial cell line is partly mediated by T1R1/T1R3 // *Eur. J. Nutr.* 2017. V. 56(8). P. 2467–2474.  
<https://doi.org/10.1007/s00394-016-1282-1>
158. *Wauson E.M., Guerra M.L., Dyachok J. et al.* Differential regulation of ERK1/2 and mTORC1 through T1R1/T1R3 in MIN6 Cells // *Mol. Endocrinology.* 2015. V. 29(8). P. 1114–1122.  
<https://doi.org/10.1210/ME.2014-1181>
159. *Wauson E.M., Zaganjor E., Lee A. et al.* The G protein-coupled taste receptor T1R1/T1R3 regulates mTORC1 and autophagy // *Mol. Cell.* 2012. V. 47(6). P. 851–862.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.08.001>
160. *Weir G.C., Clore E.T., Zmachinski C.J. et al.* Islet secretion in a new experimental model for non-insulin-dependent diabetes // *Diabetes.* 1981. V. 30(7). P. 590–595.  
<https://doi.org/10.2337/diab.30.7.590>
161. *Yan W., Sunavala G., Rosenzweig S. et al.* Bitter taste transduced by PLC-beta(2)-dependent rise in IP(3) and alpha-gustducin-dependent fall in cyclic nucleotides // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2001. V. 280. P. 742–751. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.4.C742>
162. *Yasumatsu K., Ohkuri T., Yoshida R. et al.* Sodium-glucose cotransporter 1 as a sugar taste sensor in mouse tongue // *Acta Physiol.* 2020. V. 230(4). P. e13529.  
<https://doi.org/10.1111/apha.13529>
163. *Yee K.K., Sukumaran S.K., Kotha R. et al.* Glucose transporters and ATP-gated K<sup>+</sup>(KATP) metabolic sensors are present in type 1 taste receptor 3 (T1r3)-expressing taste cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 5431–5436.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1100495108>
164. *Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J. et al.* Coding of sweet, bitter, and umami tastes: Different receptor cells sharing similar signaling pathways // *Cell.* 2003. V. 112(3). P. 293–301.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00071-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00071-0)
165. *Zhao G.Q., Zhang Y., Hoon M.A. et al.* The receptors for mammalian sweet and umami taste // *Cell.* 2003. V. 115(3). P. 255–266.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00844-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00844-4)
166. *Zhao H., Li J., Zhang J.* Molecular evidence for the loss of three basic tastes in penguins // *Current Biology* 2015. V. 25. P. 141–142.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.01.026>
167. *Zhao H., Yang J.R., Xu H. et al.* Pseudogenization of the umami taste receptor gene *Tas1r1* in the giant panda coincided with its dietary switch to bamboo // *Mol. Biol. Evol.* 2010. V. 27(12). P. 2669–2273.  
<https://doi.org/10.1093/molbev/msq153>
168. *Zhou Y., Ren J., Song T. et al.* Methionine regulates mTORC1 via the T1R1/T1R3-PLC-Ca<sup>2+</sup>-ERK1/2 signal transduction process in C2C12 cells // *International J. of Mol. Sciences.* 2016. V. 17(10). P. 1684.  
<https://doi.org/10.3390/ijms17101684>

## The Involvement of T1R Family Receptors Expressed Outside the Oral Cavity in the Regulation of Metabolism

V. O. Murovets<sup>a, \*</sup>, E.A. Sozontov<sup>a, \*\*</sup>, V. A. Zolotarev<sup>a, \*\*\*</sup>

<sup>a</sup>*Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, 199034 Russia*

<sup>\*</sup>*E-mail: murovetsvo@infran.ru*

<sup>\*\*</sup>*E-mail: sozontovea@infran.ru*

<sup>\*\*\*</sup>*E-mail: zolotarevva@infran.ru*

**Abstract** — The membrane T1R taste receptor family interacts with sweet substances — carbohydrates, artificial sweeteners and some amino acids. An important result of research in the 21st century was the discovery of abundant expression of these receptors outside of the oral cavity, mainly in cells actively involved in metabolic processes: enteroendocrine cells of the intestine, pancreatic  $\beta$ -cells, adipose and bone tissue, etc. This review integrates and analyzes current data on the role of extraoral T1R receptors in the regulation of metabolism, cell growth and differentiation, which is achieved through modulation of hormone secretion (insulin, GLP-1, GIP), activity of membrane transporters and cell growth and proliferation factors. T1R mediated cellular responses to nutrients, mechanisms of signal transduction, effects on inositol triphosphate, cAMP and intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels, stimulatory effects on glucose transporters SGLT1 and GLUT2, effects on mTOR and hormone secretion are described. The interaction of membrane receptor mechanisms and metabolic detection of glucose by the ATP/ADP ratio in the cell cytoplasm is also discussed. Putative evolutionary adaptation of metabolic processes related to nutrition and manifested in polymorphism of genes encoding T1R proteins is presented. It is suggested that extraoral taste receptors for sweet substances and amino acids may be a target for therapeutic interventions in obesity, hyperglycemia, insulin resistance, and hepatosteatosis.

**Keywords:** taste reception, digestion, glucose homeostasis, T1R receptors,  $\beta$ -cells, insulin, diabetes mellitus, obesity.

УДК 612.2 + 616.2

## ОЖИРЕНИЕ КАК ОСНОВНОЙ ФАКТОР ВЛИЯНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА НА ФУНКЦИЮ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ

© 2024 Н. П. Александрова

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии  
имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, 199034 Россия  
e-mail: aleks@infran.ru*

Поступила в редакцию 15.08.2024 г.

После доработки 10. 09.2024 г.

Принята к публикации 11.09. 2024 г.

В представленном обзоре проведен обобщенный анализ современных научных данных, объясняющих физиологические механизмы влияния ожирения на функцию внешнего дыхания. Подчеркивается многофакторный характер респираторного действия ожирения, включающий эффекты механической и воспалительной направленности. Рассмотрены последствия рестриктивных и обструктивных изменений в биомеханике дыхания, изменений топографического распределения вентиляции легких, приводящие к несоответствию вентиляции и перфузии, снижению эффективности работы дыхательных мышц. Перспективным направлением исследований признается выяснение центральных механизмов реализации респираторного действия провоспалительных медиаторов, экспрессируемых клетками жировой ткани. Особое внимание уделяется действию лептина, который является основным регулятором метаболизма и контроля дыхания при ожирении. Обсуждается его способность модулировать функцию центральных хемочувствительных структур. Предполагается, что увеличение легочной вентиляции вследствие повышения продукции лептина при ожирении имеет компенсаторный характер и позволяет пациентам с ожирением поддерживать нормокапнию, несмотря на увеличение механической нагрузки на дыхание. Тогда как резистентность к лептину и подавленная гиперкапническая вентиляционная реакция играют ключевую роль в развитии синдрома ожирения–гиповентиляции. Сделан вывод о необходимости дальнейшего изучения физиологических механизмов влияния ожирения на функцию внешнего дыхания с целью поиска новых эффективных терапевтических методов лечения заболеваний, ассоциированных с ожирением, которое является основным фактором развития метаболического синдрома.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, ожирение, внешнее дыхание, лептин, синдром ожирения–гиповентиляции.

**DOI:** 10.31857/S0301179824040063 **EDN:** AGTLKZ

### ВВЕДЕНИЕ

История формирования термина “метаболический синдром” охватывает более чем столетний период. На разных этапах для определения этого патофизиологического состояния,

характеризующегося взаимосвязью абдоминального ожирения, сердечно-сосудистой патологии и нарушениями липидного и углеводного обмена, предлагались такие термины как “метаболическая триада”, “синдром Reaven”, “метаболический X-синдром”, “синдром резистентности к инсулину”, “смертельный квартет” и др. [2]. В настоящее время в мировой литературе чаще всего встречается термин «метаболический синдром». В Международной классификации болезней (МКБ-10, ВОЗ, 1989) данный симптомокомплекс не имеет собственной кодировки и как диагноз отсутствует. Метаболический синдром определяется как совокупность нескольких патологических состояний

**Сокращения:** ИМТ – индекс массы тела; МС – метаболический синдром; ФВД – функция внешнего дыхания; МСР-1 – моноцитарный хемоаттрактантный белок; СОАС – синдром обструктивного апноэ сна; ФОЕ – функциональная остаточная емкость; ЦНС – центральная нервная система; СРАР – метод терапии положительным давлением в дыхательных путях.

— абдоминального ожирения, дислипидемии, артериальной гипертензии и нарушения толерантности к глюкозе (инсулинорезистентность, гипергликемия). Основными причинами возникновения и развития метаболического синдрома являются гиподинамия, нерациональное питание, стресс, гормональный дисбаланс, а также наследственная предрасположенность к артериальной гипертензии, атеросклерозу и сахарному диабету 2-го типа.

В связи с высокой распространенностью метаболического синдрома это состояние характеризуется Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как “неинфекционная пандемия XXI века”. Согласно результатам эпидемиологических исследований, в современном мире 1,5 млрд взрослых имеют избыточный вес, в том числе 500 миллионов страдают ожирением [32]. По данным экспертов ВОЗ, около 17% женщин и 15% мужчин, т. е. более 30% всего населения планеты, имеют или избыточную массу тела, или ожирение [63]. Известно, что именно ожирение и развивающаяся на его фоне инсулинорезистентность запускают всю патогенетическую цепь развития заболеваний, входящих в понятие МС [30]. К настоящему времени выявлена тесная связь МС с развитием сердечно-сосудистых и цереброваскулярных осложнений. У пациентов с МС в несколько раз возрастает риск развития ишемической болезни сердца, атеросклероза и инсультов [43, 44]. Метаболический синдром ассоциируется также с высоким риском развития сахарного диабета, подагры, неалкогольной жировой болезни печени, онкологических заболеваний и психосоциальных проблем [40, 46].

В последние годы все большее внимание обращается врачами-клиницистами и на нарушение функции внешнего дыхания у пациентов с МС. Выявлены достоверные корреляции между компонентами МС и основными показателями ФВД [5, 22, 80]. Установлено, что при МС именно ожирение является важным фактором риска заболевания астмой, обструктивным апноэ во сне, синдромом ожирения-гиповентиляции и легочной гипертензией, влияет на исходы острого респираторного дистресс-синдрома и хронической обструктивной болезни легких, повышает восприимчивость к респираторным заболеваниям [58]. Причем ожирение не только усиливает неблагоприятные последствия респираторных заболеваний, но и ухудшает функциональное состояние системы внешнего дыхания даже при отсутствии болезней органов дыхания [20, 65].

По мере исследования взаимосвязи между избыточным весом и метаболическими нарушениями появился новый термин “метаболически здоровое ожирение”, т. е. ожирение, при котором не наблюдается выраженных метаболических нарушений [60]. Установлено, что ожирение многие годы может не иметь тяжелых последствий для здоровья.

Однако стандартизированные критерии, при которых ожирение считается метаболически здоровым, к настоящему времени не установлены. Назвать ожирение “здоровым”, по всей вероятности, можно лишь условно. Вне зависимости от наличия или отсутствия метаболических нарушений ожирение оказывает прямое действие на функцию внешнего дыхания посредством механического влияния жировых отложений на органы дыхания [39, 45, 47, 50, 55] и опосредованное — через развитие хронического медленно развивающегося воспаления [31, 33, 63]. Имеются убедительные доказательства того, что избыточный вес, ожирение и прибавка в весе негативно влияют на функцию легких, тогда как снижение веса ослабляет и устраняет это влияние.

В данном обзоре проведен обобщенный анализ современных данных, объясняющих физиологические механизмы влияния механических и воспалительных эффектов ожирения на функцию внешнего дыхания.

## ВЛИЯНИЕ ОЖИРЕНИЯ НА БИОМЕХАНИКУ ЛЕГКИХ И ГРУДНОЙ КЛЕТКИ

### *Рестриктивные и обструктивные эффекты ожирения*

Механические эффекты ожирения приводят к сужению и закрытию дыхательных путей, а также к повышению сопротивления дыхательной системы. Влияние ожирения на функцию легких определяется прежде всего не весом или индексом массы тела, а характером распределения жира в организме [47, 52]. Наиболее опасным, оказывающим прямое влияние на механику дыхания, является так называемое центральное, андроидное, или абдоминальное ожирение, при котором жир откладывается в области живота, грудной клетки и на внутренних органах [24]. Жировые отложения в средостении и брюшной полости снижают общую податливость, или комплайнс (от англ. “compliance”) дыхательной системы, величина которого определяется растяжимостью легких и грудной стенки [50, 55, 72]. Общий комплайнс дыхательной системы снижается у людей с ожирением на одну треть от нормального значения. Этот параметр отражает степень рестриктивной патологии легких. Чем хуже податливость легких и грудной клетки, тем большее эластическое сопротивление надо преодолеть в фазу вдоха, чтобы достигнуть того же дыхательного объема, что и при нормальной податливости. В результате затрудняется движение диафрагмы вниз и движение грудной клетки наружу, повышаются внутрибрюшное и плевральное давление [13, 77]. Это ограничивает поступление воздуха в легкие, которое осуществляется по отрицательному градиенту давления в плевральной полости. Кроме

того, рестриктивная патология легких приводит к уменьшению легочных объемов: пропорционально тяжести ожирения снижается дыхательный объем, резервный объем выдоха, функциональная остаточная емкость, форсированная жизненная емкость легких [5, 34, 39]. Дыхание происходит при более низких легочных объемах. Снижение объемов легких, особенно ФОЕ, т. е. количества воздуха, которое остается в легких после спокойного выдоха, способствует развитию патофизиологических процессов в легких, обусловленных уменьшением разницы между ФОЕ и емкостью закрытия, т. е. объемом легких, при котором происходит спадение (закрытие) мелких дыхательных путей (бронхиол). С этим связана склонность пациентов с ожирением к образованию ателектаза легкого – безвоздушности легочной ткани, обусловленной спадением альвеол на ограниченном участке или во всем легком [30, 53]. При снижении уровня ФОЕ ниже емкости закрытия происходит спадение бронхиол в конце спокойного выдоха, что способствует развитию ателектазов и существенному ухудшению оксигенации крови при спокойном дыхании, несмотря на сохранение диффузионной способности легких. “Закрытые” альвеолы продолжают перфузироваться, но почти не вентилируются, развивается внутрилегочное шунтирование, приводящее к уменьшению оксигенации и гипоксемии.

Ожирение вызывает вентиляционные нарушения не только рестриктивного, но и обструктивного характера. Бодиплетизмографические исследования показали, что в добавление к эластической нагрузке лицам, страдающим ожирением, приходится преодолевать еще и повышенное аэродинамическое сопротивление дыхательных путей, которое возрастает с повышением уровня ожирения – от легкого до среднетяжелого и морбидного (ИМТ  $\geq 40$ ) [65, 84]. Об этом свидетельствует снижение объема форсированного выдоха за 1 секунду у пациентов с ожирением по сравнению с субъектами, не страдающими ожирением, что является одним из основных критериев обструктивной патологии.

#### *Изменение топографического распределения вентиляции*

Факторы, связанные с ожирением, изменяют также топографическое распределение вентиляции легких, что приводит к несоответствию вентиляции и перфузии. Проведение исследования с применением бронхопровокационного теста показало, что бронхоспазм, вызванный метахолином, у здоровых лиц с нормальной массой тела возникает только в нижней зоне легких, тогда как у субъектов, страдающих ожирением, он возникает более равномерно во всех зонах легких. [66]. Установлено, что у сидящих в вертикальном положении пациентов с ожирением вентиляция преимущественно распределена в пользу верхних зон легких

[35], тогда как перфузия значительно выше в нижних зонах легких из-за воздействия силы тяжести. Ухудшение вентиляции нижних отделов легких при ожирении является следствием дыхания при более низких легочных объемах [23, 39, 45]. Изменение топографического распределения вентиляции у субъектов с тяжелым ожирением приводит к аномальным регионарным вентиляционно-перфузионным отношениям и, как следствие, к снижению напряжения кислорода в артериальной крови при спокойном дыхании [62, 83].

#### *Снижение эффективности работы диафрагмы*

Увеличенный объем брюшной полости и висцерального жира затрудняет работу дыхательных мышц. Увеличение эластического и резистивного сопротивления дыханию при ожирении приводит к повышению работы дыхания и увеличению нагрузки на дыхательные мышцы [21, 70]. Возрастает энергетическая стоимость дыхания, снижается эффективность работы диафрагмы – основной дыхательной мышцы. Увеличенный объем брюшной полости и висцерального жира приводит к подъему диафрагмы и повышенному диафрагмальному импедансу [34]. Высокое стояние диафрагмы уменьшает величину ее экскурсий. Это снижает эффективность сокращений диафрагмы у лиц с ожирением примерно наполовину по сравнению с пациентами без ожирения [75]. Подсчитано, что максимальная произвольная вентиляция легких, показатель силы сокращений и выносливости дыхательных мышц, снижается на 20% у здоровых людей с ожирением и на 45% у людей с синдромом ожирения–гиповентиляции [42,61]. Это может быть результатом дисфункции диафрагмы из-за увеличения отложений висцеральной жировой ткани в области живота. В этих условиях наблюдается изменение паттерна дыхания. Пациенты с ожирением дышат чаще, но при более низких дыхательных объемах, чтобы уменьшить нагрузку на дыхательные мышцы и избежать гипервентиляции.

#### *Синдром ожирения-гиповентиляции*

Рестриктивные ограничения легочной вентиляции, повышенное внутрибрюшное давление, высокое стояние диафрагмы, уменьшение ее двигательной активности, вентиляционно-перфузионное несоответствие и нарушения газообмена предрасполагают к развитию синдрома ожирения-гиповентиляции [22, 48]. Впервые синдром ожирения-гиповентиляции был описан как “синдром Пиквика” в 1950-х гг. [15]. Это прогрессирующее заболевание с высокой смертностью является наиболее тяжелым проявлением респираторных заболеваний, связанных с ожирением. Синдром ожирения-гиповентиляции определяется как хроническая альвеолярная гиповентиляция,

сопровождающаяся дневной гиперкапнической дыхательной недостаточностью ( $\text{PaCO}_2 \geq 45$  мм рт. ст.) во время бодрствования, развитие которой не объясняется какими-либо другими причинами, кроме избыточной массы тела ( $\text{ИМТ} \geq 30$  кг/м<sup>2</sup>) [49, 69]. Содержание кислорода в крови у таких пациентов значительно снижено. Кроме того, для синдрома ожирения-гиповентиляции характерны нарушения дыхания во сне чаще всего обструктивного характера, которые проявляются в кратковременных обратимых остановках дыхания (апноэ) во время сна без нарушения работы дыхательных мышц и сохранения дыхательных движений (синдром сонного обструктивного апноэ). Сочетание синдрома гиповентиляции и СОАС у пациентов с ожирением наблюдается очень часто, поэтому долгое время не проводилось четкого разграничения между пациентами, страдающими синдромом ожирения-гиповентиляции, и пациентами с обструктивным апноэ во сне. В настоящее время считается, что патофизиологические механизмы развития дыхательной недостаточности на фоне ожирения и при сонном апноэ различны. Одним из доказательств этого предположения является различие в эффективности применения метода терапии положительным давлением в дыхательных путях, СИПАП-терапии (Constant Positive Airway Pressure (CPAP), при лечении синдрома ожирения-гиповентиляции [56]. На этом основании предлагается разделять пациентов с синдромом ожирения-гиповентиляции на две группы — с зависимым и независимым от апноэ механизмами развития хронической дыхательной недостаточности [6]. В первом случае CPAP-терапия оказывается более эффективной и считается первоочередным методом лечения, помогая улучшить газообмен за счет стабилизации верхних дыхательных путей и предотвращения ночных эпизодов апноэ. При более легких формах обструктивного апноэ во сне или при его отсутствии для лечения синдрома гиповентиляции при ожирении используется вспомогательная неинвазивная искусственная вентиляция. Дополнительная вентиляционная поддержка улучшает газообмен, что приводит к повышению  $\text{PaO}_2$  и значительному снижению  $\text{PaCO}_2$  в дневное время после пробуждения. Показано, что вовремя начатая неинвазивная вспомогательная вентиляция легких способствует эффективной реабилитации больных с хронической дыхательной недостаточностью, развившейся вследствие тяжелого ожирения [6].

#### *Ожирение и хроническое воспаление*

Важным механизмом, определяющим связь между МС и функцией внешнего дыхания, является системное воспаление [31]. Появляется все больше доказательств того, что жировая ткань является местом и источником хронического воспаления,

которое связано с заболеванием дыхательных путей и нарушением функции легких. Как известно, воспаление — это нормальная физиологическая реакция, необходимая для восстановления гомеостаза, нарушенного различными раздражителями. Однако хроническое или чрезмерное воспаление оказывает неблагоприятное воздействие на организм [1].

#### *Провоспалительные цитокины жировой ткани*

При избыточном весе и ожирении развивается хроническое воспаление низкой степени выраженности. Происхождение воспаления при ожирении и лежащие в его основе молекулярные механизмы, объясняющие его возникновение, до конца не изучены, но общепризнано, что центральную роль в этом процессе играют провоспалительные цитокины [63].

При ожирении в крови циркулируют более высокие концентрации провоспалительных цитокинов, чем у худощавых людей. Считается, что у пациентов с ожирением они играют определенную роль в возникновении резистентности к инсулину [41]. Установлено, что после потери веса уровень провоспалительных цитокинов в крови и жировой ткани снижается [12, 33, 64]. Ключевыми цитокинами ответственными за развитие хронического воспаления при ожирении, являются  $\text{IL-6}$ ,  $\text{TNF-}\alpha$  и  $\text{IL-1}\beta$ , [63]. Кроме того, в крови повышается уровень лептина и адипонектина, высокочувствительного С-реактивного белка и моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 [74].

Ожирение существенно влияет на иммунные клетки жировой ткани. В состав жировой ткани входят различные типы клеток: адипоциты — специализированные клетки, накапливающие жиры, преадипоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки, а также иммунные клетки — макрофаги [16, 29]. Макрофаги представляют основной источник провоспалительных цитокинов при ожирении. Ключевым патологическим фактором, способствующим развитию воспаления, является инфильтрация макрофагов в жировую ткань. Сообщается об увеличении инфильтрации подкожной и висцеральной жировой ткани макрофагами у людей с ожирением и астмой [72]. При ожирении макрофаги жировой ткани значительно увеличены, составляют до 50% от общего количества клеток [81] и имеют преимущественно провоспалительный фенотип [57]. Получены данные, указывающие на важную роль сигнальной системы инфламасом в развитии хронического провоспалительного состояния при ожирении [67, 76]. Инфламасомы — это мультибелковые комплексы, локализованные в иммунных клетках, таких как моноциты и макрофаги, которые инициирует воспалительную реакцию, являясь внутриклеточными сенсорами врожденного

иммунитета. Распознавание различных вредных сигналов инфламмосомой приводит к активации каспазы-1, которая вызывает секрецию мощных провоспалительных цитокинов, в том числе  $IL-1\beta$ . Не только макрофаги жировой ткани, но и адипоциты способны секретировать провоспалительные цитокины (адипокины), такие как  $TNF-\alpha$ ,  $IL-6$  и  $MCP-1$  [26]. Кроме того, у пациентов, страдающих ожирением, в тканях и печени наблюдается повышенная активация киназ, также индуцирующих экспрессию провоспалительных цитокинов [73].

Медиаторы воспаления, продуцируемые в жировой ткани, проникают в периферическое кровообращение и способствуют развитию субклинического хронического системного воспаления. Каждый из вырабатываемых жировой тканью цитокинов может отрицательно влиять на функционирование легких как на органном, так и на системном уровне: цитокин-опосредованные механизмы могут способствовать развитию респираторной мышечной дисфункции [4], влиять на рефлекторные механизмы регуляции дыхания, ослаблять вентиляционную чувствительность к гипоксии и гиперкапнии, ухудшая компенсаторные возможности системы внешнего дыхания [7].

#### *Респираторные эффекты адипокинов: роль лептина*

Жировая ткань является важным эндокринным органом, клетки которого, адипоциты, секретируют белки, адипокины [29]. Наиболее изученным провоспалительным адипокином является лептин, а противовоспалительным — адипонектин. У пациентов с ожирением увеличена экспрессия лептина и снижена экспрессия адипонектина. Уровень лептина в плазме крови тесно коррелирует с общей массой жира в организме, действуя через центральный механизм обратной связи. У людей с ожирением уровень лептина в сыворотке крови в четыре раза выше, чем у худощавых субъектов [59]. Например, измерение концентрации лептина с помощью радиоиммунологического анализа показало, что средняя концентрация лептина в сыворотке крови у лиц с ожирением ( $ИМТ > 27,3$  у мужчин и  $> 27,8$  у женщин) составила  $31,3 \pm 24,1$  нг/мл, тогда как у лиц с нормальным весом — только  $7,5 \pm 9,3$  нг/мл ( $P < 0,001$ ). При этом наблюдалась сильная положительная корреляция между концентрацией лептина в сыворотке крови и процентным содержанием жира в организме ( $r = 0,85$ ,  $P < 0,001$ ) [25]. Механизм, посредством которого увеличение жировых отложений приводит к повышению уровня лептина в крови, по-видимому, связан с активацией гена *ob*, кодирующего данный белок и специфичного для адипоцитов [85]. В адипоцитах пациентов с ожирением обнаружено значительно большее количество мРНК *ob*, по сравнению с субъектами с нормальным весом [25]. У мышей мутации в гене *ob*, которые приводят к недостатку

циркулирующего лептина, вызывают ожирение, тогда как введение этим мышам рекомбинантного лептина вызывает потерю веса [54].

Важно отметить, что лептин является плейотропным гормоном с широким спектром действия. Он принимает участие не только в регуляции жирового обмена и метаболизма, но влияет также на гомеостаз иммунной системы, репродукцию, ангиогенез, регуляцию двигательной активности. Выявлена роль лептина в выработке сурфактанта, в созревании и развитии легких новорожденного [27, 79]. Лептин способен свободно проникать через гематоэнцефалический барьер и связываться со специфическими рецепторами в различных структурах центральной нервной системы [9]. Специфические рецепторы к лептину обнаружены и в структурах бульбарного дыхательного центра [36, 68, 78]. Этим определяется способность лептина участвовать в центральных механизмах регуляции дыхания, что подтверждается современными экспериментальными данными, полученными в исследованиях на животных. В острых экспериментах на крысах установлено, что микроинъекции лептина в структуры дыхательного центра вызывают увеличение легочной вентиляции и дыхательного объема, усиление биоэлектрической активности инспираторных мышц, изменяют вентиляционную хемочувствительность [37, 82]. В хронических экспериментах на мышинной модели ожирения с дефицитом лептина (мышь *ob/ob*) и гиповентиляцией было показано, что микроинъекции лептина в респираторные ядра продолговатого мозга увеличивают вентиляцию легких посредством стимуляции центральных структур, участвующих в контроле дыхания [10, 51].

Сравнительное исследование респираторных эффектов, возникающих при локальных микроинъекциях лептина в различные отделы дыхательного центра, показало, что респираторные эффекты лептина реализуются главным образом на уровне трех отделов дыхательного центра: дорсальной дыхательной группы, комплекса пре-Бетцингера и рострального отдела вентральной дыхательной группы [3]. Критически важной центральной структурой для контроля дыхания посредством изменения уровня лептина является ядро одиночного тракта, в котором расположено большое количество нейронов, экспрессирующих рецептор лептина [82]. В экспериментах на мышях с использованием химиогенетической и оптогенетической стимуляции было показано, что нейроны ядра одиночного тракта, экспрессирующие рецептор лептина, активируют дыхание. При этом стимуляция нейронов, имеющих рецепторы лептина и проецирующихся на латеральное парабрахияльное ядро, не только значительно увеличивает базальную вентиляцию, но и активирует нейроны парабрахияльного ядра, проецирующиеся на комплекс

пре-Бетцингера. Сделан вывод, что усиление центральной инспираторной активности посредством лептина осуществляется через следующую цепочку: ядро одиночного тракта – латеральное парабрахиальное ядро – комплекс пре-Бетцингера [82]. Установлено, что локальное воздействие лептина на ядро одиночного тракта и область локализации вентральной дыхательной группы оказывает влияние на механизмы регуляции объемных параметров паттерна дыхания, тогда как микроинъекции лептина в комплекс пре-Бетцингера влияют в основном на ритмогенерирующую функцию дыхательного центра [3]. Предполагается, что нервные механизмы ствола мозга, опосредованные лептином, координируют вентиляцию и метаболизм, чтобы поддерживать гомеостаз организма [28, 82].

Кроме того, были получены данные о способности лептина модулировать функцию центральных хемочувствительных структур. В острых экспериментах установлено, что локальное воздействие лептина на хемочувствительные участки ядра одиночного тракта вызывает усиление вентиляционной чувствительности к гиперкапнии [38]. Экспериментальные данные, полученные на мышшиной модели ожирения, показали, что у мышей ob/ob наблюдается повышенный уровень  $\text{PaCO}_2$  и сниженная гиперкапническая вентиляционная реакция. Введение лептина устраняет гиповентиляцию и усиливает вентиляционные ответы на гиперкапнию (7%  $\text{CO}_2$ ) за счет увеличения дыхательного объема [10, 51]. Предполагается, что модуляция лептином респираторных ответов на гиперкапнию осуществляется при участии меланокортиновой системы головного мозга [11]. Получены также данные о возможности периферического действия лептина посредством его влияния на каротидные тела и усиления гипоксической вентиляционной реакции. Этот эффект лептина устраняется денервацией каротидных тел [18].

Так как при ожирении уровень лептина в крови повышается, то логично предположить, что для пациентов с ожирением характерна усиленная реакция на гиперкапнию по сравнению с нормальными субъектами. Взаимосвязь между нормакапническим морбидным ожирением и респираторной реакцией на химические раздражители была выявлена при измерении гиперкапнических и гипоксических вентиляционных ответов у пациентов с ожирением. Было установлено, что после потери веса наклон гиперкапнического и гипоксического вентиляционного ответа значительно снижается. Результаты исследования позволяют сделать вывод, что у пациентов с ожирением, которые поддерживают адекватную альвеолярную вентиляцию во время бодрствования, дыхательная реакция на химические раздражители действительно усиливается. Предполагается, что увеличение легочной вентиляции вследствие повышения продукции

лептина носит компенсаторный характер и позволяет пациентам с ожирением поддерживать  $\text{PaCO}_2$  на нормальном уровне, несмотря на увеличение механической нагрузки на дыхание [17]. Вместе с тем, исследования гиперкапнических пациентов с синдромом ожирения-гиповентиляции в состоянии покоя выявили ослабление вентиляционных реакций на гипоксию и гиперкапнию по сравнению с реакциями пациентов с простым нормакапническим ожирением [14]. Было установлено, что у пациентов с синдромом ожирения-гиповентиляции более высокая концентрация лептина в сыворотке крови не способствует адекватному возрастанию вентиляции легких, позволяющему избежать хронической гиперкапнии [71]. По-видимому, у этих больных развивается резистентность к эндогенному лептину, кроме того, при высоком уровне циркулирующего лептина может наблюдаться относительный дефицит лептина в ЦНС [19, 25]. Вероятно, подавленная гиперкапническая вентиляционная реакция играет ключевую роль в развитии синдрома ожирения-гиповентиляции. Подробный обзор современных взглядов на опосредованные лептином механизмы, которые регулируют дыхание и способствуют поддержанию газового гомеостаза, представлен в работе Amorim с соавт. [8].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных и клинических исследований позволяют утверждать, что ожирение оказывает многофакторное негативное воздействие на функцию внешнего дыхания (рис. 1). Механизмы, лежащие в основе респираторного действия ожирения, объясняются биомеханическими изменениями в работе дыхательной системы, а также повышением циркулирующего уровня провоспалительных медиаторов.

Накопление жира в средостении и брюшной полости оказывают прямое механическое воздействие на дыхательную функцию, снижая эластичность легких и грудной стенки и увеличивая сопротивление дыхательных путей. Вентиляционные нарушения рестриктивного характера приводят к снижению легочных объемов, развитию ателектазов и существенному ухудшению оксигенации крови. Ухудшению процесса оксигенации при ожирении способствует также изменение топографического распределения вентиляции легких. Кроме того, жировые отложения затрудняют движение диафрагмы, увеличивают нагрузку на дыхательные мышцы и способствуют развитию их утомления.

Негативное механическое воздействие ожирения на функцию дыхания дополняется развитием хронического субклинического воспаления, вызванного повышением экспрессии провоспалительных цитокинов и адипокинов клетками жировой ткани. За последнее десятилетие были



**Рис. 1.** Схема основных механизмов влияния ожирения на функцию внешнего дыхания.

достигнуты важные успехи в понимании роли лептина в механизмах респираторного действия ожирения. Установлено, что лептин – гормон вырабатываемый адипоцитами, является основным регулятором метаболизма и контроля дыхания при ожирении. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения центральных механизмов реализации респираторного действия лептина, так как они являются мишенями для поиска наиболее эффективных терапевтических методов лечения заболеваний, ассоциированных с ожирением.

В данном обзоре рассмотрены основные физиологические механизмы влияния ожирения на функцию внешнего дыхания. Однако ожирение приводит и к развитию патофизиологических процессов в системе дыхания, являясь модифицирующим фактором многих респираторных заболеваний. Многие пациенты с ожирением страдают респираторными симптомами и заболеваниями. Механические изменения в системе внешнего дыхания вызывают астмоподобные симптомы, такие как одышка, хрипы и гиперреактивность дыхательных путей. Подавленная гиперкапническая вентиляционная реакция, характерная для ожирения и резистентность к лептину, играют ключевую роль в развитии синдрома ожирения-гиповентиляции. Снижение легочных объемов, способствующее повышенному закрытию дыхательных путей, приводит к более тяжелым обострениям обструктивной болезни легких с сопутствующим усилением гипоксии и десатурации артериального кислорода, препятствует доставке ингаляционных препаратов в мелкие дыхательные пути и способствует резистентности к ингаляционной терапии. Потенциальным механизмом заболеваний дыхательных путей может быть и вызванная ожирением пролиферация тучных клеток, которые являются ключевыми медиаторами аллергии. Ожирение является также фактором риска развития синдрома обструктивного апноэ во сне. Изучение физиологических

механизмов влияния ожирения на функцию внешнего дыхания необходимо для поиска новых терапевтических стратегий по предотвращению и ослаблению неблагоприятных последствий ожирения, являющегося основным фактором развития МС.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№1021062411787-0-3.1.8).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Александрова Н.П.* Механизмы влияния цитокинового шторма на функцию внешнего дыхания // *Успехи физиол. наук.* 2022. Т. 53. № 3. С. 3–14. <https://doi.org/10.31857/S0301179822030043>
2. *Беленков Ю.Н., Привалова Е.В., Каплунова В.Ю. и др.* Метаболический синдром: история развития, основные критерии диагностики // *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии.* 2018. Т. 14. № 5. С. 757–764. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2018-14-5-757-764>
3. *Инюшкина Е.М., Исакова Т.С., Захарушкина А.А., Инюшкин А.Н.* Участие лептина в регуляции дыхания на уровне комплекса пре-Бетцингера // *Современные вопросы биомедицины.* 2021. Т. 5. № 3. [https://doi.org/10.51871/2588-0500\\_2021\\_05\\_03\\_7](https://doi.org/10.51871/2588-0500_2021_05_03_7)
4. *Калинина Е.П., Гельцер Б.И., Курпатов И.В., Горборукова Т.В., Гвозденко Т.А.* Оценка роли цитокин-опосредованных механизмов в развитии дисфункции дыхательных мышц у больных хронической болезнью легких // *Мед.*

- иммунология. 2019. Т. 21. № 3. С. 487–494.  
<https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-3-487-494>
5. Ковалькова Н.А., Рагино Ю.И., Травникова Н.Ю. и др. Ассоциации метаболического синдрома и сниженной функции легких у лиц молодого возраста // Терапевт. архив. 2017. С. 54–61.  
<https://doi.org/10.17116/terarkh2017891054-61>
  6. Пальман А.Д. Синдром ожирения-гиповентиляции: современный взгляд // Эффективная фармакотерапия. Неврология и психиатрия. Спец выпуск “Сон и его расстройства – 4”. 2016. С. 68–73.
  7. Aleksandrova N.P., Klinnikova A.A., Danilova G.A. Cyclooxygenase and nitric oxide synthase pathways mediate the respiratory effects of TNF- $\alpha$  in rats // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2021. V. 284. 103567.  
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2020.103567>
  8. Amorim M.R., Aung O., Mokhlesi B., Polotsky V.Y. Leptin-mediated neural targets in obesity hypoventilation syndrome // *Sleep.* 2022. V. 45. № 9. zsc153.  
<https://doi.org/10.1093/sleep/zsc153>
  9. Banks W.A. Leptin and the Blood-Brain Barrier: Curiosities and Controversies // *Compr. Physiol.* 2021. V. 11. № 4. P. 2351–2369.  
<https://doi.org/10.1002/cphy.c200017>
  10. Bassi M., Furuya W.I., Menani J.V. et al. Leptin into the ventrolateral medulla facilitates chemorespiratory response in leptin-deficient (ob/ob) mice // *Acta Physiol. (Oxf).* 2014. V. 211. № 1. P. 240–248.  
<https://doi.org/10.1111/apha.12257>
  11. Bassi M., Nakamura N.B., Furuya W.I. et al. Activation of the brain melanocortin system is required for leptin-induced modulation of chemorespiratory function // *Acta Physiol.* 2015. V. 213. № 4. P. 893–901.  
<https://doi.org/10.1111/apha.12394>
  12. Bastard J.P., Jardel C., Bruckert E. et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000. V. 85. № 9. P. 3338–3342.  
<https://doi.org/10.1210/jcem.85.9.6839>
  13. Behazin N., Jones S.B., Cohen R.I., Loring S.H. Respiratory restriction and elevated pleural and esophageal pressures in morbid obesity // *J. Appl. Physiol.* (1985) 2010. V. 108. № 1. P. 212–218.  
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.91356.2008>
  14. Berger K.I., Goldring R.M., Rapoport D.M. Obesity hypoventilation syndrome // *Semin. Respir. Crit. Care. Med.* 2009. V.30. № 3. P. 253–261.  
<https://doi.org/10.1055/s-0029-1222439>
  15. Bickelmann A.G., Burwell C.S., Robin E.D., Whalley R.D. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation: A Pickwickian syndrome // *Am. J. Med.* 1956. Vol. 21. № 5. P. 811–818.  
[https://doi.org/10.1016/0002-9343\(56\)90094-8](https://doi.org/10.1016/0002-9343(56)90094-8)
  16. Blüher M. Obesity: Global epidemiology and pathogenesis // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2019. V. 15. № 5. P. 288–298.  
<https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
  17. Böing S., Randerath W.J. Chronic hypoventilation syndromes and sleep-related hypoventilation // *J. Thorac. Dis.* 2015. V. 7. P. 1273–1285.  
<https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2015.06.10>
  18. Caballero-Eraso C., Shin M.K., Pho H. et al. Leptin Acts in the Carotid Bodies to Increase Minute Ventilation during Wakefulness and Sleep and Augment the Hypoxic Ventilatory Response // *J. Physiol.* 2019. V. 597. P. 151–172.  
<https://doi.org/10.1113/JP276900>
  19. Caro J.F., Kolaczynski J.W., Nyce M.R., et al. Decreased cerebrospinal fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance // *Lancet.* 1996. V. 348. P.159–1561.  
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)03173-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)03173-x)
  20. Cheryl M.S., King G.G., Berend N. Physiology of obesity and effects on lung function // *J. Appl. Physiol.* (1985). 2010. V. 108. № 1. P. 206–211.  
<https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00694.2009>
  21. Ching-Kai Lin<sup>1</sup>, Ching-Chi Lin Work of breathing and respiratory drive in obesity // *Respirology.* 2012. V. 17. № 3. P. 402–11.  
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1843.2011.02124.x>
  22. Choi J.H., Park S., Shin Y.H., Kim M.Y., Lee Y.J. Sex differences in the relationship between metabolic syndrome and pulmonary function // *Endocr. J.* 2011. V. 58. № 6. P. 459–465.  
<https://doi.org/10.1507/endocrj.k11e-011>
  23. Collet F., Mallart A., Bervar J.F., et al. Physiologic correlates of dyspnea in patients with morbid obesity // *Int. J. Obes.* 2007. V. 31. № 4. P. 700–706.  
<https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803460>
  24. Collins L.C., Hoberty P.D., Walker J.F., Fletcher E.C., Peiris A.N. The effect of body fat distribution on pulmonary function tests // *Chest.* 1995. V. 10. №7. 5. P. 1298–12302.  
<https://doi.org/10.1378/chest.107.5.1298>
  25. Considine R.V., Sinha M.K., Heiman M.L. et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans // *N. Engl. J.*

- Med. 1996. V. 334. P. 292–295.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM199602013340503>
26. *Coppack S.W.* Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue // *Proc. Nutr. Soc.* 2001. V. 60. № 3. P. 349–356.  
<https://doi.org/10.1079/PNS2001110>
  27. *De Blasio M.J., Boije M., Kempster S.L. et al.* Leptin Matures Aspects of Lung Structure and Function in the Ovine Fetus // *Endocrinology*. 2016. V. 157. № 1. P. 395–404.  
<https://doi.org/10.1210/en.2015-1729>
  28. *Do J., Chang Z., Sekerková G., McCrimmon D., Martina M.* A leptin-mediated neural mechanism linking breathing to metabolism // *Cell. Rep.* 2020. V. 33. № 6. P. 108358.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108358>
  29. *Dodson M.V., Mir P.S., Hausman G.J. et al.* Obesity, metabolic syndrome, and adipocytes // *J. Lipids*. 2011. Vol. 7. P. 72–86.  
<https://doi.org/10.1155/2011/721686>
  30. *Eichenberger A., Proietti S., Wicky S., et al.* Morbid obesity and postoperative pulmonary atelectasis: an underestimated problem // *Anesth. Analg.* 2002. V. 95. № 6. P. 1788–92.  
<https://doi.org/10.1097/0000539-200212000-00060>
  31. *Faloia E., Michetti G., De Robertis M. et al.* Inflammation as a link between obesity and metabolic syndrome // *J. Nutr. Metab.* 2012. V. 2012. 476380.  
<https://doi.org/10.1155/2012/476380>
  32. *Finucane M.M., Stevens G.A., Cowan M.J. et al.* National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants // *The Lancet*. 2011. V. 377. № 9765. P. 557–56.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62037-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62037-5)
  33. *Gregor M.F., Hotamisligil G.S.* Inflammatory mechanisms in obesity // *Annu. Rev. Immunol.* 2011. V. 29. P. 415–445.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>
  34. *Hodgson L.E., Murphy P.B., Hart N.* Respiratory management of the obese patient undergoing surgery // *J. Thorac. Dis.* 2015. V. 7. № 5. P. 943–952.  
<https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2015.03.08>
  35. *Holley H.S., Milic-Emili J., Becklake M.R. et al.* Regional distribution of pulmonary ventilation and perfusion in obesity // *J. Clin. Invest.* 1967. V. 46. № 4. P. 475–481. <https://doi.org/10.1172/JCI105549>
  36. *Hosoi T., Kawagishi T., Okuma Y., Tanaka J., Nomura Y.* Brain stem is a direct target for leptin's action in the central nervous system // *Endocrinology*. 2002. V. 143. № 9. P. 3498–3504.  
<https://doi.org/10.1210/en.2002-220077>
  37. *Inyushkin A.N., Inyushkina E.M., Merkulova N.A.* Respiratory responses to microinjections of leptin into the solitary tract nucleus // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2009. V. 39. № 3. P. 231–240.  
<https://doi.org/10.1007/s11055-009-9124-8>
  38. *Inyushkina E.M., Merkulova N.A., Inyushkin A.N.* Mechanisms of the respiratory activity of leptin at the level of the solitary tract nucleus // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2010. V. 40. № 7. P. 707–713.  
<https://doi.org/10.1007/s11055-010-9316-2>
  39. *Jones R.L., Nzekwu M.M.* The effects of body mass index on lung volumes // *Chest*. 2006. V. 130. № 3. P. 827–833.  
<https://doi.org/10.1378/chest.130.3.827>
  40. *Kaplan M.S. Huguet N., Newsom J.T., McFarland B.H., Lindsay J.* Prevalence and correlates of overweight and obesity among older adults: Findings from the Canadian National Population Health Survey // *J. Gerontol.* 2003. V. 58. № 11. P. 1018–1030.  
<https://doi.org/10.1093/gerona/58.11.m1018>
  41. *Kern P.A., Ranganathan S., Li C., Wood L., Ranganathan G.* Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001. V. 280. № 5. P. E745–E751.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.2001.280.5>
  42. *Koenig S.M.* Pulmonary complications of obesity // *Am. J. Med. Sci.* 2001. V. 321. № 4. P. 249–279.  
<https://doi.org/10.1097/00000441-200104000-00006>
  43. *Koton S., Sang Y., Schneider A.L. et al.* Trends in stroke incidence rates in older US adults: An update from the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) cohort study // *JAMA Neurol.* 2020. V. 77. № 1. P. 109–113.  
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.3258>
  44. *Laakso M., Kuusisto J., Stancakova A. et al.* The metabolic syndrome in men study: A resource for studies of metabolic and cardiovascular diseases // *J. Lipid. Res.* 2017. V. 58. № 3. P. 481–493.  
<https://doi.org/10.1194/jlr.O072629>
  45. *Ladosky W., Botelho M.A., Albuquerque J.P.* Chest mechanics in morbidly obese

- non-hypoventilated patients // *Respir. Med.* 2001. V. 95. № 4. P. 281–286.  
<https://doi.org/10.1053/rmed.2001.1035>
46. *Lavie C.J., Milani R.V., Ventura H.O.* Obesity and cardiovascular disease: Risk factor, paradox, and impact of weight loss // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009. V. 53. № 21. P. 1925–1932.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.068>
47. *Leone N., Courbon D., Thomas F. et al.* Lung function impairment and metabolic syndrome: The critical role of abdominal obesity // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2009. V. 179. № 6. P. 509–516.  
<https://doi.org/10.1164/rccm.200807-1195OC>
48. *Masa J.F., Pépin J-L., Borel J-C. et al.* Obesity hypoventilation syndrome // *Eur. Respir. Rev.* 2019. V. 28: 180097.  
<https://doi.org/10.1183/16000617.0097-2018>
49. *Mokhlesi B., Kryger M.H., Grunstein R.R.* Assessment and management of patients with obesity hypoventilation syndrome // *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2008. V. 5. № 2. P. 218–225.  
<https://doi.org/10.1513/pats.200708-122MG>
50. *Naimark A., Cherniack R.M.* Compliance of the respiratory system and its components in health and obesity // *J. Appl. Physiol.* 1960. V. 15. № 377–382.  
<https://doi.org/10.1152/jappl.1960.15.3.377>
51. *O'Donnell C.P., Schaub C.D., Haines A.S. et al.* Leptin prevents respiratory depression in obesity // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 1999. V. 159. P. 1477–1484.  
<https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.5.9809025>
52. *Ochs-Balcom H.M., Grant B.J., Muti P. et al.* Pulmonary function and abdominal adiposity in the general population // *Chest.* 2006. V. 129. № 4. P. 853–862.  
<https://doi.org/10.1378/chest.129.4.853>
53. *Pankow W., Podszus T., Gutheil T. et al.* Expiratory flow limitation and intrinsic positive end-expiratory pressure in obesity // *J. Appl. Physiol.* 1998. V. 85. № 4. P. 1236–43.  
<https://doi.org/10.1152/jappl.1998.85.4.1236>
54. *Pelleymounter M.A., Cullen M.J., Baker M.B. et al.* Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice // *Science.* 1995. V. 269 (5223). P. 540–543.  
<https://doi.org/10.1126/science.7624776>
55. *Pelosi P., Croci M., Ravagnan I. et al.* The effects of body mass on lung volumes, respiratory mechanics, and gas exchange during general anesthesia // *Anesth. Analg.* 1998. V. 87. № 3. P. 654–660.  
<https://doi.org/10.1097/0000539-199809000-00031>
56. *Pepin J.L., Timsit J.F., Tamisier R. et al.* Prevention and care of respiratory failure in obese patients // *Lancet Respir. Med.* 2016. V. 4. № 5. P. 407–418.  
[https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(16\)00054-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(16)00054-0)
57. *Periyalil H.A., Wood L.G., Wright T.A. et al.* Obese asthmatics are characterized by altered adipose tissue macrophage activation // *Clin. Exp. Allergy.* 2018. V. 48. № 6. P. 641–649.  
<https://doi.org/10.1111/cea.13109>
58. *Peters U., Dixon A.E.* The effect of obesity on lung function // *Expert. Rev. Respir. Med.* 2018. V. 12. № 9. P. 755–767.  
<https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1506331>
59. *Phipps P.R., Starritt E., Caterson I., Grunstein R.R.* Association of serum leptin with hypoventilation in human obesity // *Thorax* 2002. № 57 P. 75–76. <https://doi.org/10.1136/thorax.57.1.75>
60. *Primeau V., Coderre L., Karelis A.D. et al.* Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy // *Int. J. Obes. (Lond).* 2011. V. 35. № 3. P. 971–81.  
<https://doi.org/10.1038/ijo.2010.216>
61. *Ray C.S., Sue D.Y., Bray G., Hansen J.E., Wasserman K.* Effects of obesity on respiratory function // *Am. Rev. Respir. Dis.* 1983. V. 128. № 3. P. 501–6.  
<https://doi.org/10.1164/arrd.1983.128.3.501>
62. *Rivas E., Arismendi E., Agustí A. et al.* Ventilation/Perfusion distribution abnormalities in morbidly obese subjects before and after bariatric surgery // *Chest.* 2015. V. 147. № 4. P. 1127–1134.  
<https://doi.org/10.1378/chest.14-1749>
63. *Rodríguez-Hernández H., Simental-Mendía L., Rodríguez-Ramírez G., Reyes-Romero M.* Obesity and Inflammation: Epidemiology, Risk Factors, and Markers of Inflammation // *Int. J. Endocrinol.* 2013. V. 2013. P. 678159.  
<https://doi.org/10.1155/2013/678159>
64. *Roth C.L., Kratz M., Ralston M.M. et al.* Changes in adipose-derived inflammatory cytokines and chemokines after successful lifestyle intervention in obese children // *Metabolism.* 2011. V. 60. № 4. P. 445–452.  
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2010.03.023>
65. *Rubinstein I., Zamel N., DuBarry L., Hoffstein V.* Airflow limitation in morbidly obese non-smoking men // *Ann. Intern. Med.* 1990. V. 112. № 11. P. 828–32.
66. *Rutting S., Mahadev S., Tonga K.O. et al.* Obesity alters the topographical distribution of ventilation and the regional response to

- bronchoconstriction // *J. Appl. Physiol.* 2020. V. 128. № 1. P. 168–177.  
<https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00482.2019>
67. *Schroder K., Tschopp J.* The inflammasomes // *Cell.* 2010. V. 140. № 6. P. 821–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.040>
68. *Scott M.M., Lachey J.L., Sternson S.M. et al.* Leptin targets in the mouse brain // *J. Comp. Neurol.* 2009. V. 514. № 5. P. 518–532.  
<https://doi.org/10.1002/cne.22025>
69. *Shah N.M., Shrimanker S., Kaltsakas G.* Defining obesity hypoventilation syndrome // *Breathe.* 2021. V. 17. № 3. P. 210089.  
<https://doi.org/10.1183/20734735.0089-2021>
70. *Sharp J.T., Henry J.P., Sweany S.K. et al.* The total work of breathing in normal and obese men // *J. Clin. Invest.* 1964. V. 43. P. 728–739.  
<https://doi.org/10.1172/JCI104957>
71. *Shimura R., Tatsumi K., Nakamura A. et al.* Fat accumulation, leptin, and hypercapnia in obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome // *Chest.* 2005. V. 127. № 2. P. 543–549.  
<https://doi.org/10.1378/chest.127.2.543>
72. *Sideleva O., Suratt B.T., Black K.E. et al.* Obesity and asthma: an inflammatory disease of adipose tissue not the airway // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2012. V. 186. № 7. P. 598–605.  
<https://doi.org/10.1164/rccm.201203-0573OC>
73. *Solinas G., Karin M.* JNK1 and IKK $\beta$ : Molecular links between obesity and metabolic dysfunction. // *The FASEB J.* 2010. V. 24. № 8. P. 2596–2611.  
<https://doi.org/10.1096/fj.09-151340>
74. *Staiger H., Tschritter O., Machann J. et al.* Relationship of serum adiponectin and leptin concentrations with body fat distribution in humans // *Obes. Res.* 2003. V. 11. № 3. P. 368–372.  
<https://doi.org/10.1038/oby.2003.48>
75. *Steier J., Jolley C.J., Seymour J. et al.* Neural respiratory drive in obesity // *Thorax.* 2009. V. 64. № 8. P. 719–725.  
<https://doi.org/10.1136/thx.2008.109728>
76. *Stienstra R., Tack C.J., Kanneganti T.D., Joosten L.A., Netea M.G.* The inflammasome puts obesity in the danger zone // *Cell Metabolism.* 2012. V. 15. № 1. P. 10–18.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.011>
77. *Sugerman H., Windsor A., Bessos M. et al.* Intra-abdominal pressure, sagittal abdominal diameter and obesity comorbidity // *J. Intern. Med.* 1997. V. 241. № 1. P. 71–79.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1997.89104000.x>
78. *Sun L., Zhu M., Wang M. et al.* Whole-brain monosynaptic inputs and outputs of leptin receptor neurons of the nucleus tractus solitarius in mice // *Brain. Res. Bull.* 2023. V. 201:110693.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.110693>
79. *Torday J.S., Powell F.L., Farmer C.G. et al.* Leptin integrates vertebrate evolution: from oxygen to the blood-gas barrier // *Res. Physiol. Neurobiol.* 2010. V. 173. P. S37–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.resp.2010.01.007>
80. *Voronkova O., Birulina Y., Saprina T., Esimova I.* The role of metabolic syndrome factors in the pathogenesis of respiratory disorders // *Pulmonologia.* 2021. V. 33. № 4. P. 552–558.  
<https://doi.org/10.18093/0869-0189-2022-2419>
81. *Weisberg S.P., McCann D., Desai M. et al.* Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue // *J. Clin. Invest.* 2003. V. 112. № 12. P. 1796–808.  
<https://doi.org/10.1172/JCI19246>
82. *Yu H., Shi L., Chen J. et al.* Neural Circuit Mechanism Controlling Breathing by Leptin in the Nucleus Tractus Solitarius // *Neurosci. Bull.* 2022. V. 38. № 2. P. 149–165.  
<https://doi.org/10.1007/s12264-021-00742-4>
83. *Zavorsky G.S., Hoffman S.L.* Pulmonary gas exchange in the morbidly obese // *Obes. Rev.* 2008.; V. 9. № 4. P. 326–339.  
<https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2008.00471.x>
84. *Zerah F., Harf A., Perlemuter L. et al.* Effects of obesity on respiratory resistance // *Chest.* 1993. V. 103. № 5. P. 1470–1476.  
<https://doi.org/10.1378/chest.103.5.1470>
85. *Zhang Y., Proenca R., Maffei M. et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue // *Nature.* 1994. V. 372 (6505). P. 425–432.  
<https://doi.org/10.1038/372425a0>

## Obesity as the Main Factor of Metabolic Syndrome Influencing on Respiratory Function

N. P. Aleksandrova

*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia  
e-mail:aleks@infran.ru*

**Abstract** – In the review, a generalized analysis of current scientific data explaining the physiological mechanisms of the influence of obesity on respiratory system is carried out. The multifactorial nature of the respiratory effect of obesity, including mechanical and inflammatory effects, is emphasized. The consequences of restrictive and obstructive changes in the biomechanics of respiration, changes in the topographic distribution of lung ventilation, mismatch of ventilation and perfusion, and a decrease in the efficiency of the respiratory muscles are considered. Elucidation of the central mechanisms of the respiratory action of proinflammatory mediators expressed by adipose tissue cells is recognized as a promising area of research. Special attention is paid to the action of leptin, which is the main regulator of metabolism and respiratory control in obesity. Its ability to modulate the central respiratory chemosensitive is discussed. It is assumed that an increase in pulmonary ventilation due to an increase in leptin production in obesity has a compensatory character and allows obese patients to maintain normocapnia despite an increase in mechanical load on respiration system. Whereas leptin resistance and suppressed hypercapnic ventilation response play a key role in the development of obesity–hypoventilation syndrome. It is concluded that it is necessary to further study the physiological mechanisms of the influence of obesity on the respiratory function in order to find new effective therapeutic methods for the treatment of diseases associated with obesity, which is the main factor in the development of metabolic syndrome.

**Keywords:** metabolic syndrome, obesity, respiration, leptin, obesity–hypoventilation syndrome.