

РОЛЬ АПОПТОЗ-АССОЦИИРОВАННЫХ БЕЛКОВ p53 И Bcl-2 В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

© 2024 г. Е. Д. Бажанова^{1,2,*}, А. А. Козлов²

¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

²Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: bazhanovae@mail.ru

Поступила в редакцию 22.04.2024 г.

После доработки 04.07.2024 г.

Принята к публикации 30.07.2024 г.

Заболевания центральной нервной системы занимают ведущее место, наряду с сердечно-сосудистыми и онкологическими, и доля пациентов, страдающих болезнями нервной системы, увеличивается по мере старения населения. В эту группу входят острые состояния, такие, как ишемический инсульт, и хронические многофакторные заболевания — болезни Альцгеймера и Паркинсона, эпилепсия и др. Разработка специфических методов их лечения затруднена, а эффективность имеющихся препаратов невысока. В основе практически всех заболеваний головного мозга лежат общие механизмы, такие как окислительные стресс, воспаление и гибель нейронов. Чаще всего клетки гибнут путём апоптоза из-за нарушения баланса между проапоптотическими и антиапоптотическими факторами. В данной работе рассмотрены два из них: способствующий апоптозу фактор транскрипции и супрессор опухолей p53 и противостоящий ему белок В-клеточной лимфомы Bcl-2. Выбор данных белков для исследования обусловлен тем, что оба белка являются ключевыми регуляторами апоптоза и имеют важное значение в патогенезе нервных заболеваний, поскольку зрелые нейроны не являются пролиферирующими клетками. Белок p53 участвует в регуляции множества генов, ответственных за репарацию ДНК, апоптоз, другие биохимические клеточные процессы, особенно важно это при исследовании патологии нейронов. Bcl-2 подавляет апоптоз в различных клетках, в том числе нейронах, контролируя проницаемость мембран митохондрий и ингибируя каспазы. При заболеваниях его экспрессия может как повышаться, например, в случае злокачественных опухолей, так и снижаться, как в случае с нейродегенеративными процессами. Установлено, что p53 и Bcl-2 находятся в тесном взаимодействии в процессе регуляции апоптоза, их соотношение может являться важным прогностическим фактором. Целью данной работы была оценка роли этих белков в патогенезе различных заболеваний нервной системы, и поиск общих закономерностей изменений их экспрессии и коэкспрессии.

Ключевые слова: апоптоз, p53, Bcl-2, патогенез, заболевания нервной системы, эпилепсия

DOI: 10.31857/S0044452924040019, **EDN:** YQIJBС

ВВЕДЕНИЕ

Согласно данным, опубликованным в 2012 г., ежегодные затраты на обследование и лечение заболеваний головного мозга превышают стоимость всех других заболеваний вместе взятых, включая сердечно-сосудистые болезни, злокачественные новообразования и диабет. Эти затраты будут расти по мере старения населения, поскольку именно возраст является основным фактором риска нейродегенеративных заболеваний. Более молодые категории населения поражают другие заболевания нервной системы, среди которых расстройства аутистического спектра (РАС), шизофрения и умственная отсталость. Крайние возрастные катего-

рии уязвимы для эпилепсии, для депрессии возраст значения почти не имеет.

Всемирная организация здравоохранения пришла к выводу, что на заболевания головного мозга приходится примерно треть общего бремени болезней в Европе. Разработка лекарств против них затруднена, а имеющиеся препараты чаще всего могут лишь отсрочить начало заболевания или облегчить симптомы. Одной из основных проблем здесь является отсутствие идентифицированных мишеней для лекарств, поскольку молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе ряда заболеваний нервной системы, изучены не до конца. Чтобы изменить это, необходимы большие усилия по изучению этиологии и патогенетических ме-

ханизмов нарушений как развивающегося, так и взрослого мозга [1].

Дегенеративные процессы и гибель нейронов являются важными признаками различной патологии ЦНС: от нейродегенеративных заболеваний и эпилепсии, до последствий травм. Выделяют более 12 типов клеточной гибели, среди которых внутренний и внешний апоптоз, онкоз, некроптоз, партанатоз, ферроптоз, сармоптоз, аутофагия, аутолиз, автолиз, параптоз, пироптоз, фагоптоз и переход митохондриальной проницаемости. Несмотря на десятилетия исследований и тысячи статей, роль каждого из них до конца еще не раскрыта [2].

В патогенезе многих заболеваний нервной системы, среди которых эпилепсия, особенно фармако-резистентная, наибольшее значение имеет апоптоз нейронов и глиальных клеток головного мозга, роль которого и будет рассмотрена [3].

Целью данной работы была оценка роли апоптоз-ассоциированных белков p53 и Bcl-2 в патогенезе различных заболеваний нервной системы, острых и хронических, и поиск общих закономерностей изменений их экспрессии и коэкспрессии в нервной системе при патологии. Несмотря на значительное количество работ, посвященных изменению уровня данных белков при различных неврологических проблемах, в настоящее время нет работ, обобщающих уже полученные данные. В связи с этим мы представляем анализ современных исследований, как экспериментальных, так и клинических, представляющих данные о механизмах апоптоза при различных заболеваниях нервной системы, и особое внимание уделено роли проапоптотического белка p53 и антиапоптотического Bcl-2.

Апоптоз в патогенезе заболеваний нервной системы

Рассмотрим примеры некоторых заболеваний и роль апоптоза в их патогенезе.

Ишемический инсульт, вызванный артериальной окклюзией, является распространенным типом инсульта, который входит в число наиболее частых причин инвалидности и смертности во всем мире. Для уменьшения его последствий необходимо быстрое нейропротекторное вмешательство, но точные механизмы гибели нейронов остаются неизученными, что ограничивает разработку лекарств. Основной проблемой терапии инсульта является поиск эффективного нейропротектора [4]. В патогенезе ишемического инсульта участвуют несколько путей клеточной гибели, включая апоптоз, опосредуемый внутренним и внешнерецепторным путями, некроптоз, аутофагию, ферроптоз, партанатоз, фагоптоз и пироптоз. При возникновении инсульта нарушается транспорт кислорода, глюкозы и других субстратов. Нейроны при этом переходят от аэробного окисления к анаэробному, а потребление

АТФ быстро превышает его синтез. Падение его концентрации в нейронах снижает ионные градиенты, а также ухудшает приток $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ и отток K^+ . Нарушение работы ионных каналов вызывает деполяризацию нейронов и высвобождает огромное количество возбуждающих нейротрансмиттеров, таких как глутамат. Впоследствии Ca^{2+} запускает внутренний путь апоптоза, а также некоторые другие цитоплазматические и ядерные события, ведущие нейрон к гибели. Перегрузка Ca^{2+} запускает активацию кальпаина, а одним из основных субстратов кальпаина является антиапоптотический белок Bcl-2. Во время ишемии в нейронах также имеет место повреждение ДНК, ответом на которое становится активация p53. При восстановлении кровотока после ишемии образуется большое количество активных форм кислорода (АФК), что также запускает апоптоз. Нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера и сигнальные молекулы, такие как цитокины, высвобождаемые астроцитами, микроглией и олигодендроцитами, запускают воспалительные каскады, продолжающие работу дни и недели после ишемии. Активация иммунных клеток во время воспаления может инициировать внешний путь апоптоза через TNF- α/β , лиганд Fas (FasL) и рецептор-лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с TNF (TRAIL-R) [5,6].

Несмотря на значительный прогресс в изучении шизофрении, этиология и патофизиология этого сложного заболевания остаются неясными. Большинство причин имеют наследственный характер, но нельзя отрицать и роль других факторов, таких как материнские инфекции, недоедание, употребление каннабиса и психосоциальный стресс. Есть предположение, что шизофрения может включать ограниченный нейродегенеративный процесс, который начинает проявляться с появлением клинических симптомов. В его основе может лежать апоптоз. Большинство посмертных и нейровизуализационных исследований больных шизофренией показало небольшие изменения в структуре мозга. Среди них уменьшение коры, снижение числа синапсов, плотности дендритных отростков и уменьшение длины дендритов без масштабной потери нейронов. Аналогичные изменения происходят в гиппокампе. Однако исследования также показывают региональное и послойное снижение плотности пирамидных и непирамидных нейронов в коре и гиппокампе. Эти изменения носят прогрессивный характер на разных стадиях шизофрении. Основная потеря серого вещества при этом происходит не за счёт гибели нейронов целиком, а локально — в синапсах, дендритах, аксонах. Апоптоз участвует в патогенезе шизофрении, но не является основным патогенетическим фактором [7]. Одним из факторов риска шизофрении признаны дефекты митохондрий, как наследственные, так и

приобретённые, но связанные с воспалительными и апоптотическими процессами в нейронах. Гипофункция митохондрий нарушает синаптическую передачу, метаболизм кальция и активность потенциалов действия, что приводит к аномальной работе нейронов [8].

Молекулярный патогенез расстройств аутистического спектра (РАС) до сих пор так же неясен, как и в случае с шизофренией. До сих пор полностью не раскрыты функциональные и молекулярные изменения в мозге пациентов с РАС. Тем не менее, РАС приводят к значительной смертности среди детей, проблемам с социализацией, общением и поведенческими нарушениями. В мозге больных обнаружены следующие изменения: чрезмерный рост аксонов и дендритов, гибель гранулярных клеток, снижение количества, атрофия клеток Пуркинье в мозжечке, абберрантная миелинизация. К таким изменениям может привести патологическая активация нейровоспалительных и апоптотических путей. Имеющиеся данные позволяют предположить, что клеточный стресс, окислительный стресс и апоптоз могут способствовать развитию аутистического фенотипа [9, 10]. С помощью методов транскриптомики выявлены абберрантные синаптические, метаболические, пролиферационные, иммунные механизмы, сигнальные каскады апоптоза, участвующие в патогенезе РАС. Такие изменения характерны и для наследственных заболеваний, предрасполагающих к аутизму, таких как синдром Ретта и ломкая X-хромосома. В наибольшей степени поражаются мозжечок и лобная кора. Исследования мозга больных показывают снижение уровней экспрессии антиапоптотических белков, либо увеличение экспрессии проапоптотических белков в лобной коре головного мозга и мозжечке при РАС [11].

Недавние исследования показали, что митохондриальная дисфункция, нарушение регуляции нейровоспалительных и апоптотических путей участвуют в патофизиологии большого депрессивного расстройства [12]. Секвенирование РНК из образцов периферической крови десяти подростков с большим депрессивным расстройством и десяти здоровых подростков из контрольной группы, выявило 18 930 дифференциально экспрессируемых генов, среди которых были гены, участвующие в апоптозе [13].

Апоптоз нейронов и глиальных клеток головного мозга имеет большое значение в патогенезе эпилепсии, особенно её лекарственно-устойчивых форм. С каждым припадком апоптоз вызывает нарастающие повреждения головного мозга, что особенно проявляется в гиппокампе, приводя, в том числе, к развитию лекарственной устойчивости и множеству когнитивных нарушений [14]. В патогенезе эпилепсии задействованы как внешнерецепторный путь апоптоза, активируемый связыванием

лигандов с малой молекулярной массой и рецепторов клеточной смерти семейства фактора некроза опухоли (TNF), таких как TNFR1, Fas (CD95), DR4 (TRAIL рецептор 1), DR5 (TRAIL рецептор 2), так и внутренний, митохондриальный, основанный на регуляции проницаемости внешней мембраны митохондрий с помощью белков семейства Bcl-2. При этом активация внешнего пути часто предшествует внутреннему. В этих каскадах задействованы каспазы-3 и -7. Повышение их уровня в эпилептических очагах после судорог не оставляет сомнений в вовлечённости апоптоза в эпилептогенез [15]. Показано, что после судорог возникают многочисленные структурные и функциональные аномалии митохондрий в нейронах, которые в дальнейшем также могут вызывать судороги [16]. Роль апоптоза показана при посттравматической эпилепсии, которая характеризуется развитием отсроченных неспровоцированных припадков после черепно-мозговой травмы и занимает до 20% в общей статистике заболеваемости. Несмотря на значительные усилия, предпринятые для понимания её патогенеза и повышения эффективности лечения, часто эта форма эпилепсии не поддаётся терапии имеющимися препаратами. Как и в случае эпилепсии другого генеза, во время судорог происходит апоптоз нейронов. Более того, повторные приступы повреждают нейроны и вызывают их гибель и вторичную потерю. Исследования выявили типичные признаки апоптоза в поврежденных отделах мозга, такие как повышенные уровни экспрессии каспазы-3 и Bax [17].

Нейродегенеративные расстройства характеризуются прогрессирующей потерей определенных популяций нейронов. Апоптоз участвует в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона, Альцгеймера, Гентингтона, боковой амиотрофический склероз.

Болезнь Паркинсона — прогрессирующее неврологическое расстройство, характеризующееся дофаминергической нейродегенерацией в черной субстанции мозга. Семейные формы болезни Паркинсона связаны с мутациями в генах, в большинстве случаев она является идиопатической. Для болезни Паркинсона характерны патологические тельца Леви в нейронах, возникающие в результате агрегации α -синуклеина, который локализуется пресинаптически, особенно в нервных окончаниях. Кроме того, α -синуклеин локализуется в митохондриальной мембране, что приводит к окислительному стрессу и активации внутреннего пути апоптоза. Апоптоз рассматривается как механизм потери дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона, о чем свидетельствует идентификация апоптотических клеток и фрагментация ДНК, сверхэкспрессия активной каспазы-8, -9 и -3, повышенные уровни проапоптотических белков и

снижение уровней антиапоптотических белков в дофаминергических нейронах [18].

Болезнь Альцгеймера считается основной формой деменции у пожилых людей. Патологически она характеризуется накоплением β -амилоидных бляшек, нейрофибриллярных клубков и накоплением гиперфосфорилированного тау-белка. Как и в случае с болезнью Паркинсона, β -амилоид накапливается на внешней мембране митохондрий нейронов, запуская окислительный стресс и активируя внутренний каскад апоптоза. В мозге пациентов была обнаружена фрагментация ДНК с помощью метода TUNEL, сниженная экспрессия антиапоптотического белка Bcl-2, сверхэкспрессия проапоптотического белка BAX и наличие активированной каспазы-3 в нейронах с нейрофибриллярными клубками [18].

Болезнь Гентингтона — это аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание, которое характеризуется прогрессирующим нарушением координации произвольных движений, а также поведенческими и когнитивными нарушениями. Она вызвана аномальным увеличением числа тринуклеотидных повторов CAG в гене, кодирующем белок гентингтин, следствием чего является дегенерация ГАМКергических нейронов неостриатума у пациентов. Мутантный гентингтин индуцирует апоптоз нейронов и является субстратом для каспазы-3, которая расщепляет его на более мелкие нейротоксичные пептиды, и нарушает равновесие между проапоптотическими и антиапоптотическими молекулами, может взаимодействовать с митохондриями, вызывая их дисфункцию. При болезни Гентингтона показана характерная для апоптоза фрагментация ДНК (TUNEL) [18].

Боковой амиотрофический склероз поражает мотонейроны коры и передних рогов спинного мозга, в результате наблюдается прогрессирующий паралич всех конечностей, дыхательной и глоточной мускулатуры, что приводит к смерти в течение 3–5 лет после начала заболевания. У 20 % пациентов выявлена мутация гена, кодирующего супероксиддисмутазу. Таким образом, патогенез заболевания включает перегрузку нейронов кальцием и окислительный стресс, приводящий к нарушению функции митохондрий и активации внутреннего пути апоптоза. Как и в случае других нейродегенеративных заболеваний, здесь выявлены фрагментация ДНК, активация каспазы-9, сверхэкспрессия BAX и снижение экспрессии Bcl-2 [18].

p53 и апоптоз нейронов

Фактор транскрипции и супрессор опухолей p53 — тетрамерный фосфопротеин, который управляет рядом основных клеточных функций, включая транскрипцию генов, синтез и репарацию ДНК, регуляцию клеточного цикла, старение и ги-

бель клеток. Этот белок является одним из ключевых модуляторов реакции клеток на стресс, активация которого запускает апоптоз в различных типах клеток, в число которых входят и нейроны. P53 относится к обширному семейству генов, таких как p63 и p73. Все они имеют много общего: ключевые функциональные домены, включая N-концевой домен трансактивации, C-концевой домен олигомеризации и консервативный ДНК-связывающий домен. При сверхэкспрессии p63 и p73 могут брать на себя часть функций p53, активируя те же гены-мишени и индуцируя апоптоз. Однако их роль в апоптозе нейронов до конца не ясна. В отличие от p53, который не играет явной роли в нормальном развитии, p63 необходим для развития некоторых тканей, например, эпителия, а p73 функционирует преимущественно в центральной нервной системе (ЦНС), в укороченной форме p73b выполняя антиапоптотическую функцию. При обсуждении роли p53 в гибели клеток головного мозга важно различать апоптоз, возникающий в ответ на повреждение или травму, и гибель клеток, происходящую во время нейрогенеза и в норме во взрослом мозге [19].

P53 — эволюционно консервативный белок, ген которого появился около 600–800 миллионов лет назад у первых многоклеточных животных, и его пути опосредуют подавление опухолевого роста посредством информированного, регулируемого и интегрированного набора ответов на изменения окружающей среды, приводящие либо к гибели клеток, либо к поддержанию клеточного гомеостаза [20]. Белки p53 и MDM2 образуют центральный узел этого пути, который получает стрессовые сигналы через MDM2 и реагирует через p53, модулируя и изменяя множество других путей и функций в клетке. Концентратор MDM2-p53 является одним из хабов, на котором сходятся множество сигнальных путей, чем обусловлена его многофункциональность, выходящая за простой запуск апоптоза. Это узел обеспечивает адекватную реакцию клетки стресс различного генеза. По крайней мере, 14 различных сигналов стресса передают информацию MDM2 в узле пути MDM2-p53. Для этих путей характерна избыточность, повышающая надёжность. Он останавливает клеточный цикл как в фазе G1, так и G2, что являются прекрасным примером избыточности путей внутри концентратора MDM2-p53 [21]. Метаболические пути — это еще один большой набор сетей, с которыми активно работает p53. Он запускает транскрипцию TP53-индуцированного регулятора гликолиза и апоптоза (TIGAR), белка, который снижает гликолитическую активность и уровни АФК во время онкогенеза. p53 также индуцирует SCO2 (цитохромоксидаза 2), которая регулирует митохондриальное дыхание. Паркин, белок, кодируемый p53-регулируемым ге-

ном в митохондриях, опосредует митофагию после повреждения ДНК и останавливает активность АФК [22]. p53 индуцирует некоторые сестрины, которые дополнительно связывают его с регуляцией АФК и передачей сигналов mTOR. Гены, регулируемые p53, кодирующие PTEN, β -субъединицу 5'-АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK) и туберин (TSC2), регулируют мишень комплекса рапамицина 1 (mTORC1) и mTORC2 у млекопитающих, которые, в свою очередь, играют центральную роль в эффективной трансляции и регуляции роста и деления клеток. Таким образом, для p53 характерны обширные связи с клеточным циклом и метаболическими процессами, а также избыточность способов воздействия на них, что необходимо учитывать при рассмотрении роли этого белка при апоптозе в норме и патологии. Из-за многообразия функций его нельзя рассматривать в отрыве от других происходящих в клетке событий [23].

Экспрессия p53 повышена в повреждённых нейронах на моделях острых повреждений, таких как ишемия и эпилепсия, а также в образцах ткани головного мозга, полученных на животных моделях и у пациентов с хроническими нейродегенеративными заболеваниями. Однако не факт, что активация p53 приведёт нейроны к гибели, о чем свидетельствует мышьячная модель синдрома Ангельмана,

где активность p53 оказывала сублетальное воздействие на нейроны, кульминацией которого не являлась их гибель [24]. Хронический окислительный стресс активировал p53 до уровня, при котором активность каспаз отмечалась лишь в аксонах и дендритах, способствуя их истончению и деградации синапсов [25]. Дефицит p53 или его ингибирование защищает нейроны от широкого спектра острых токсических воздействий, таких как фокальная ишемия [26], гипоксия, ионизирующее излучение [27], введение каиновой кислоты [28], повреждающих ДНК агентов, глутамата. Однако лишённые p53 нейроны мозжечка всё равно гибнут при переносе в среду с низким содержанием калия или воздействию растительного нейротоксина метилазоксиметанола, а постнатальные нейроны коры и гиппокампа не выдерживают действия антибиотика стауроспорина [29].

Концентрация p53 в нейронах быстро нарастает в ответ на повреждения, включая окислительный и метаболический стрессы, гипоксию, гипогликемию, нарушение трофики, избыток кальция в клетках и вирусные инфекции (рис. 1). Общим местом всех этих состояний, объединяющим различные пути передачи сигналов стресса, и инициирующим p53-опосредованный апоптоз, может служить окислительное повреждение ДНК. Окислительное

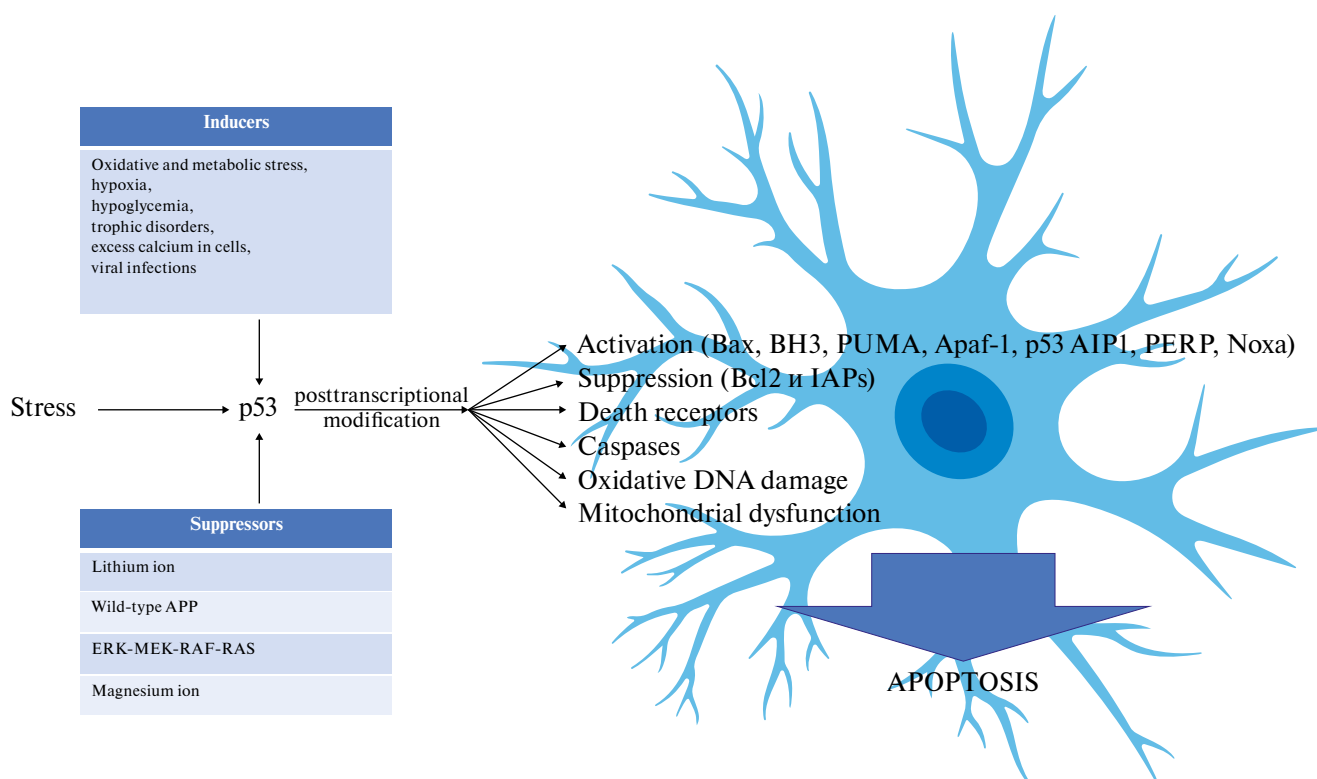


Рис. 1. Роль p53 в апоптозе нейронов.

повреждение ДНК специфично. При нём наблюдается модификация оснований гидроксильными радикалами (8-гидрокси-20-дезоксигуанозин), расщепление N-гликозидных связей дезоксинуклеотидов с образованием апурин-апиримидиновых сайтов (AP-сайтов) и разрывы. Оно затрагивает и белки репарации, усиливая повреждения ДНК [30]. Иногда для активации p53 достаточно разрушения ядрышка, что и было предложено в качестве ключевого механизма для интеграции известных стимулов активации p53, но в нейронах подобного не выявлено. При активации p53 подвергается ряду посттрансляционных модификаций, повышающих его стабильность или аффинность связывания ДНК, в числе которых фосфорилирование N-концевых остатков, фосфорилирование по остаткам серина или треонина, ацетилирование остатков в C-концевой области, поли(ADP) рибозилирование, модификация убиквитиноподобным белком SUMO [31]. Модификации p53 могут различаться между популяциями нейронов, зависеть от тяжести повреждений и возраста. За этим следует активация генов, кодирующих проапоптотические белки Bax, Bcl-2, PUMA, Araf-1, p53 AIP1, PERP, Noxa, и транскрипционная репрессия генов выживания, таких как Bcl2 и IAPs (рис. 1). В дополнение к транскрипционной активации, вызывающей гибель клетки, p53 может прямо запускать апоптоз, действуя на уровне митохондрий. Как фактор транскрипции p53 изучен хорошо, но его роль в апоптозе нейронов не ограничивается этим. В p53-опосредованном апоптозе могут участвовать механизмы, независимые от транскрипционной активности p53. Они могут включать пролонгированную активацию механизмов репарации ДНК, транслокацию Fas-рецепторов на клеточную мембрану, активацию каспаз и транслокацию p53 в митохондрии. Кроме того, p53 может локально действовать в синапсах, опосредуя митохондриальную дисфункцию и синаптическую дегенерацию в ответ на повреждение ДНК, окислительные или эксайтотоксические воздействия. Это может иметь важное значение при различных нейродегенеративных заболеваниях, но точный механизм инициации p53-опосредованной митохондриальной дисфункции в синапсах еще предстоит раскрыть. Возможно, он связан с взаимодействием p53 и антиапоптотического белка семейства Bcl-2 Bcl-xL. Ведущая роль p53 в инициации нейронального апоптоза показана на примере действия его ингибиторов, предотвращающих гибель клеток, антисмысловых олигонуклеотидов или нокаута гена [32].

p53 в нервной системе функционирует как в физиологических условиях, при формировании и развитии ЦНС, так и при неврологических расстройствах, таких как инсульт, болезни Альцгеймера и Паркинсона, синдром Ангельмана, черепно-мозго-

вые травмы, боковой амиотрофический склероз, аутизм, спинocerebellарная атаксия и эпилепсия [33].

Апоптоз нейронов играет важную роль в патофизиологии ишемического повреждения головного мозга и его последствиях. После инсульта p53 быстро накапливается в пострадавшей области мозга, где активирует апоптоз нейронов посредством как транскрипционно-зависимых, так и независимых программ. Он быстро перемещается в митохондрии и взаимодействует с проапоптотическими белками семейства Bcl-2, такими как Bcl-xL, которые активируют митохондриальный путь апоптоза, с более высокой эффективностью, чем если бы p53 выступал в своей обычной роли фактора транскрипции. Этот процесс занимает не более часа. Так как выживаемость нейронов, особенно чувствительных к ишемии, прямо пропорциональна времени, прошедшему с момента активации сигнальных каскадов апоптоза, в случае запуска его митохондриального пути шансы клеток выжить после инсульта невелики [34].

Ген-супрессор опухоли p53 человека (TP53) считается геном-кандидатом предрасположенности к шизофрении из-за своих функций в развитии нервной системы. Кроме того, он расположен в области хромосомы 17p13.1, регионе, мутации в которой часто связаны с шизофренией. В исследовании восьми полиморфизмов в этом гене у европейцев обнаружены связи между вариантами заболеваемостью шизофренией на примере 266 пациентов из Торонто, 264 здоровых людей и 162 нуклеарных семей из Португалии. С пациентами проводился структурный клинический опрос для уточнения анамнеза. Затем из образцов их крови была выделена ДНК и проведено генотипирование восьми полиморфизмов в TP53 [35]. Изучение полиморфизмов BstUI в экзоне 4 и MspI в сайтах рестрикции интрона 6 гена p53 методом ПЦР RFLP с использованием ДНК, выделенной из периферической крови у 100 пациентов с шизофренией, 100 — раком легких и 100 здоровых людей контрольной группы выявило существенные различия в частотах генотипов и аллелей [36].

При аутизме наблюдаются незначительное повышение уровней p53, в частности, в клетках Пуркинье и гранулярных клетках мозжечка, подтвержденное вестерн-блоттингом и иммуногистохимическим методом [11].

Кроме того, повышенная экспрессия факторов апоптоза, в том числе белка p53, обнаружена в мозге у пациентов с синдромом Дауна.

Исследования методом вестерн-блоттинга удаленного участка гиппокампа у пациентов с трудноизлечимой височной эпилепсией выявили активацию биохимических путей, связанных с p53-зависимым апоптозом. Уровни p53 у больных превышали таковые в контрольных образцах. Им-

муногистохимические методы показали локализацию p53 в ядрах нейронов и глии [37]. Методами иммунофлуоресценции, иммуногистохимии и вестерн-блоттинга отмечалась повышенная экспрессия p53 в ядрах нейронов области СА3 гиппокампа крыс, которым вводили пентилентетразол внутривнутрибрюшинно, по сравнению с контрольной группой, при этом в зубчатой извилине гиппокампа таких различий не было [38]. В образцах мозга пациентов с фокальной лекарственно-устойчивой эпилепсией экспрессия проапоптотического белка p53 в коре головного мозга и белом веществе эпилептического очага и перифокальной зоны была повышена по сравнению с людьми без эпилепсии, что было оценено с помощью вестерн-блоттинга [39].

Подавление p53 прямыми или косвенными способами может уменьшить апоптоз, вызванный эпилептическими припадками. Перспективным направлением в настоящее время считается воздействие на микроРНК. МикроРНК широко экспрессируются в ЦНС и играют важную роль в патогенезе ряда неврологических расстройств, включая эпилепсию. Во множестве исследований отмечено нарушение экспрессии различных микроРНК в затронутых эпилепсией гиппокампе по сравнению с контролем [40].

Было бы ошибкой считать ингибирование p53 универсальным методом борьбы с эпилепсией, в ряде случаев может наступить ухудшение. Это показал эксперимент с эпилептическим статусом у мышей дикого типа и животных с недостатком p53. Анализ электроэнцефалограммы (ЭЭГ) во время эпилептического статуса, индуцированного введением каиновой кислоты в область миндалевидного тела, показал, что у генетически модифицированных мышей с дефицитом p53 судороги длились значительно дольше по сравнению с животными дикого типа по данным электроэнцефалографии. Тем не менее, гибель нейронов в зоне СА3 гиппокампа и неокортексе была значительно снижена через 72 часа у мышей с дефицитом p53. При этом повреждение гиппокампа у них было сопоставимым [41].

Болезнь Альцгеймера — форма деменции, которая проявляется потерей памяти, когнитивными дисфункциями, изменениями личности вследствие появления бляшек β -амилоида (A β), нейрофибриллярных клубков, нейровоспаления и потери нейронов. В мозге пациентов наблюдается повышенная экспрессия p53 в глиальных клетках и в нейронах височной коры. Он же участвует в дегенерации нейронов мозжечка и амилоидогенном процессе его старения. К основным признакам болезни Паркинсона относятся содержащиеся α -синуклеин тельца Леви, утрата дофаминергических нейронов чёрной субстанции и атрофия серого вещества. При посмертном исследовании мозга больных в нём обна-

руживается высокое содержание p53. P53 участвует в патогенезе семейных форм болезни. Сверхэкспрессия p53 ослабляет митохондриальный перенос Ca²⁺, вызывая дисфункцию митохондрий и прогрессирующее заболевание. Активация p53 в ответ на нейродегенеративный стресс тесно связана с дегенерацией дофаминергических нейронов, сопровождающейся митохондриальной дисфункцией, выработкой АФК, аномальной агрегацией белков и нарушением аутофагии [42].

Болезнь Гентингтона — наследственное заболевание нервной системы, результат умножения САG повтора свыше 36 копий в открытой рамке считывания гена НТТ, кодирующего белок гентингтин с неизвестной функцией. Для этой болезни характерно позднее проявление. Атрофия полосатого тела и потеря нейронов приводит к появлению психиатрических симптомов. Мутантный белок М-Нтт присоединяется к p53 и усиливает ядерный p53 и транскрипционную активность. Ингибирование p53 и усиление активности SIRT1 ресвератролом являются важными механизмами нейропротекции в борьбе с симптомами болезни согласно результатам исследования экспрессии miR-34a, b и c у мышей линии R6/2 в мозге, печени и скелетных мышцах [43].

p53 можно рассматривать как основной фактор нейродегенерации, вызванной метамфетамином [44].

Таким образом, для описанных заболеваний нервной системы (эпилепсии, шизофрении, расстройствах аутистического спектра, болезни Альцгеймера и Гентингтона и др.) характерна патологическая гибель нейронов и глиальных клеток, в основном путём апоптоза, и p53 играет здесь ведущую роль (Рис. 3). Экспериментальные данные указывают на него как на перспективную мишень для лекарственных препаратов, но в каждом отдельном случае требуется дополнительное исследование, так как существуют другие механизмы апоптоза, кроме p53-зависимого, и другие формы гибели клеток. Подавление апоптоза при эпилепсии, например, может способствовать выживанию aberrантных нейронов, прогрессированию болезни и развитию лекарственной устойчивости, либо привести клетки на более опасный путь некроза.

Bcl-2 и апоптоз нейронов

В 1988 году было обнаружено, что белок Bcl-2 (B Cell Lymphoma/Leukaemia 2) массой 26 кДа способствует развитию злокачественных опухолей, не давая их клеткам погибнуть, но при этом не усиливая пролиферацию. Единственным белком, с которым Bcl-2 имел гомологию, был белок вируса Эпштейна-Барр (EBV), известный как BHRF1. Появление молекулярных технологий в 1970-х и 1980-х годах имело решающее значение для исследований

функции Bcl-2, а клонирование мышиноного гомолога Bcl-2 в 1987 году позволило начать его исследование на животных. Ген *Bcl-2* был идентифицирован в результате исследования хромосомной транслокации t(14;18), которая обнаруживается почти во всех фолликулярных лимфомах [45].

Впоследствии было показано, что экспрессия Bcl-2 может защищать клетки от стресса, вызванного различными факторами, в числе которых тепловой шок, различные цитотоксические агенты, такие как метотрексат, и ионизирующее излучение. Затем были открыты и другие белки со сходным строением. Белки семейства Bcl-2 эволюционно консервативны и имеют общие домены гомологии Bcl-2 (BH). Гены Bcl-2 возникли, по-видимому, у предка многоклеточных до разделения стрекающих и двустороннесимметричных животных и были идентифицированы даже у пластинчатых и губок, при этом их нет и не было у гребневикулов, а некоторые нематоды их вторично утратили. Семейство Bcl-2 состоит из двух групп белков, одна из которых имеет α -спиральную складку Bcl-2 и присутствует у губок, пластинчатых, стрекающих и двустороннесимметричных животных, а вторая — BH3 отсутствует у пластинчатых и губок [46].

Функционально их можно разделить на антиапоптотические, проапоптотические и дивергентные (BH3). Проапоптотические Bax-подобные белки создают поры во внешней мембране мито-

хондрией, что приводит к высвобождению цитохрома с в цитоплазму, активации каспаз и, далее, к гибели клеток (рис. 2). Антиапоптотические белки, как Bcl-2, связывают и ингибируют подмножество доменов BH3, непосредственно вызывая олигомеризацию Bax или BAK. Группа BH3 объединяет белки со слабовыраженной гомологией последовательностей по сравнению с Bcl-2 [47]. Многие из этих белков широко распространены и экспрессируются в нервной системе развивающихся и взрослых организмов.

Из-за первоначально обнаруженной способности Bcl-2 защищать клетки от гибели часто забывают, что это обширное семейство белков, которые также играют важную роль в поддержании функций клеток, не связанных с апоптозом. К ним относятся участие в регуляции таких процессов, как продолжение клеточного цикла, работа митохондрий, аутофагия, внутриклеточная концентрация кальция, метаболизм глюкозы и липидов, а также развернутый белковый ответ на различные стимулы. В дополнение к этим установленным альтернативным функциям делаются дальнейшие открытия, обнаруживающие все новые функции данного белка. Из-за этого усиление или уменьшение экспрессии Bcl-2 не всегда напрямую соотносится с уровнями апоптоза и нужно рассматривать другие белки и их молекулярные пути [48].

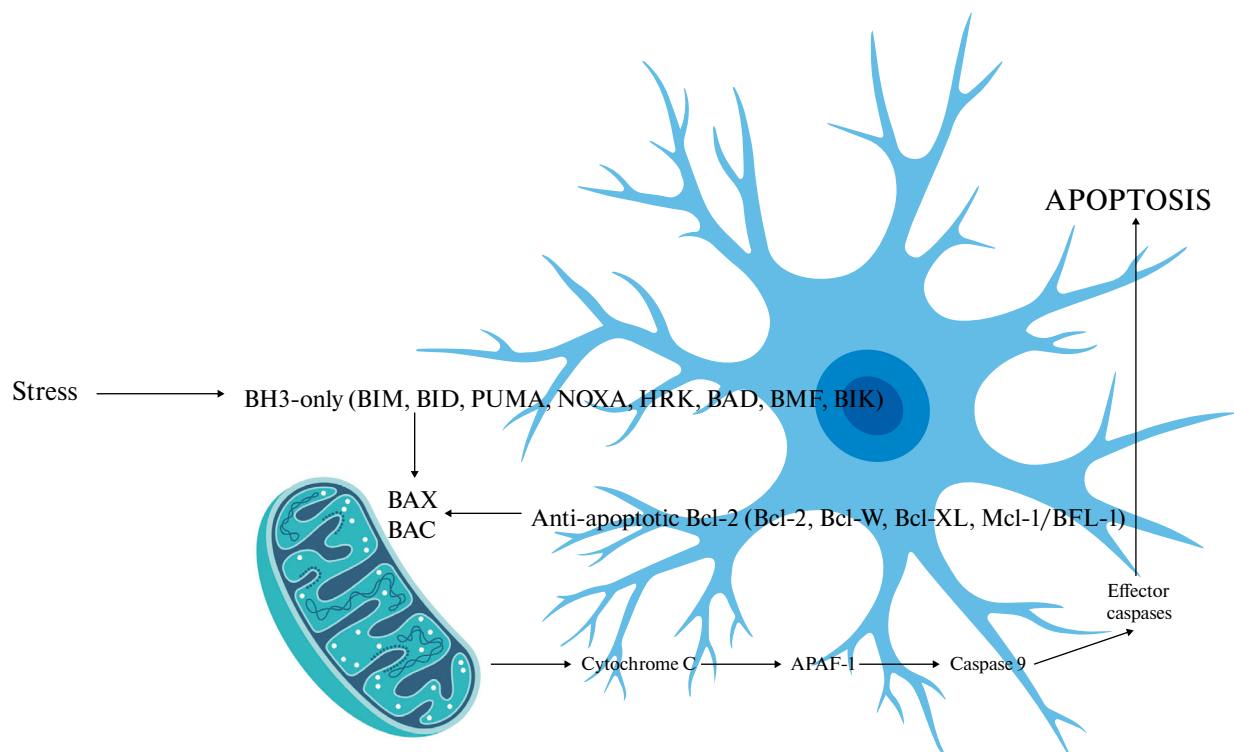


Рис. 2. Роль белков семейства Bcl-2 в апоптозе нейронов.

Bcl-2 играет двойную роль в поддержании динамического баланса между выживанием и гибелью раковых клеток. Было показано, что Bcl-2 задерживает переход фазы G0/G1 в S, регулируя митохондриальные метаболические пути для производства более низких уровней АТФ и АФК. Однако подробные молекулярные механизмы, с помощью которых Bcl-2 регулирует клеточный цикл, остаются неизвестными. Влияние Bcl-2 на регуляцию клеточного цикла было обнаружено путём мониторинга экспрессии Bcl-2 и p27. Протеомный анализ клеток, сверхэкспрессирующих Bcl-2, выявил 169 белков с повышенным уровнем экспрессии и 120 белков с пониженным уровнем с диапазоном отклонения от нормы в 1,5 раза. В основном они связаны с работой рибосом и окислительным фосфорилированием. Дифференциально экспрессируемые белки, участвующие в окислительном фосфорилировании, объясняют большую часть эффектов Bcl-2. Bcl-2 потенциально действует на уровне трансляции, оказывая влияние на белки или ферменты дыхательной цепи митохондрий и рибосомы, тем самым регулируя клеточный цикл. Однако детальные механизмы не прямой регуляции клеточного цикла Bcl-2 неясны [49]. Уклонение от апоптоза посредством сверхэкспрессии Bcl-2 вместе с бесконтрольным делением было признано отличительной чертой злокачественных опухолей.

Показана физиологическая роль Bcl-2 и Bcl-x в выживании нейронов. Они защищают нейроны от целого спектра токсических воздействий [50]. Bcl-2 широко экспрессируется в развивающемся и зрелом мозге, где участвует в регуляции путей окислительного стресса [51]. Несмотря на высокие уровни экспрессии мРНК и белка Bcl-2 как в клетках-предшественниках нейронов, так и в постмитотических нейронах эмбрионального мозга, дефицит Bcl-2 не вызывает каких-либо необратимых изменений и развитие идёт нормально, без значительного усиления запрограммированной гибели нейронов. При дефиците Bcl-2 наблюдается усиленная потеря мотонейронов, симпатических нейронов и сенсорных нейронов в раннем постнатальном периоде, оценка экспрессии Bcl-2 проводилась иммуногистохимическим методом [52]. В постнатальном периоде уровень Bcl-2 снижается в большинстве областей мозга, за исключением тех, где продолжается нейрогенез, но и там он падает с возрастом. Помимо нейронов, здесь он также экспрессируется микроглией. В периферической нервной системе его экспрессия остаётся высокой на протяжении всей жизни [53].

Однако экспрессия Bcl-2 изменяется при многих состояниях, для которых характерна быстрая или отсроченная гибель нейронов, а также нейродегенерация. Во многих случаях описано снижение

уровней антиапоптотических белков Bcl-2 с увеличением уровней проапоптотических белков или без него в поражённых областях мозга. В других случаях при тех же патологических состояниях описывается повышенная экспрессия антиапоптотических генов и их белков, что может просто отражать реакцию выжившей популяции клеток [54].

Активация сигнального пути ERK1/2/CREB/BCL-2 противомаларийным препаратом артемизином улучшала состояние переживших ишемический инсульт мышей. Артемизинин ослаблял выработку АФК, потерю мембранного потенциала митохондрий, снижал концентрацию медиаторов апоптоза, окислительного стресса и нейровоспаления, а также ускорял восстановление двигательных функций у животных. Данные были получены на клетках линии PC12 и C57BL/6J (E18), а также на биоптатах нервной ткани мышей линии C57BL/6J. Оценка производилась с помощью анализа жизнеспособности (МТТ — колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток), цитотоксичности, оценки апоптоза с помощью окрашивания Hoechst 33342, FACS, также оценивали активность каспазы-3, внутриклеточных АФК с помощью DCFH-DA, измерения митохондриального мембранного потенциала, вестерн-блоттинга, окрашивания по Нисслю и анализа TUNEL [55]. С помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией было также показано, что микроРНК-21 (miR-21) снижала гибель нейронов, защищала выжившие клетки от ишемического повреждения, что подтверждено TUNEL, и улучшала неврологические функции за счёт ингибирования передачи сигналов p53/Bcl-2/Bax [56].

Антиапоптотический белок Bcl-2 был первым регуляторным фактором апоптоза, изученным у больных шизофренией с помощью вестерн-блоттинга и иммуноферментного анализа. Исследования выявили сниженные на более чем 25% уровни Bcl-2 в височной коре головного мозга при шизофрении по сравнению с контролем. Более того, Bcl-2 обладает независимыми от апоптоза нейротрофическими свойствами на уровне дендритов. В совокупности эти данные позволяют предположить, что низкие уровни Bcl-2 могут способствовать снижению плотности коры при шизофрении. Соотношение Bax/Bcl-2 при шизофрении обычно увеличено на 50% по сравнению с контрольной корой. Считалось, что более высокое соотношение Bax/Bcl2 отражает более высокую восприимчивость к проапоптотическим стимулам, но полноценно запуститься апоптозу не дают низкие уровни каспазы-3 и -9. При шизофрении обнаружены изменения экспрессии 12 из 44 апоптотических генов. Из них семь имели повышенную регуляцию, четыре из которых были проапоптотическими (JNK, каспаза-2, Bid, Rip) и три — ан-

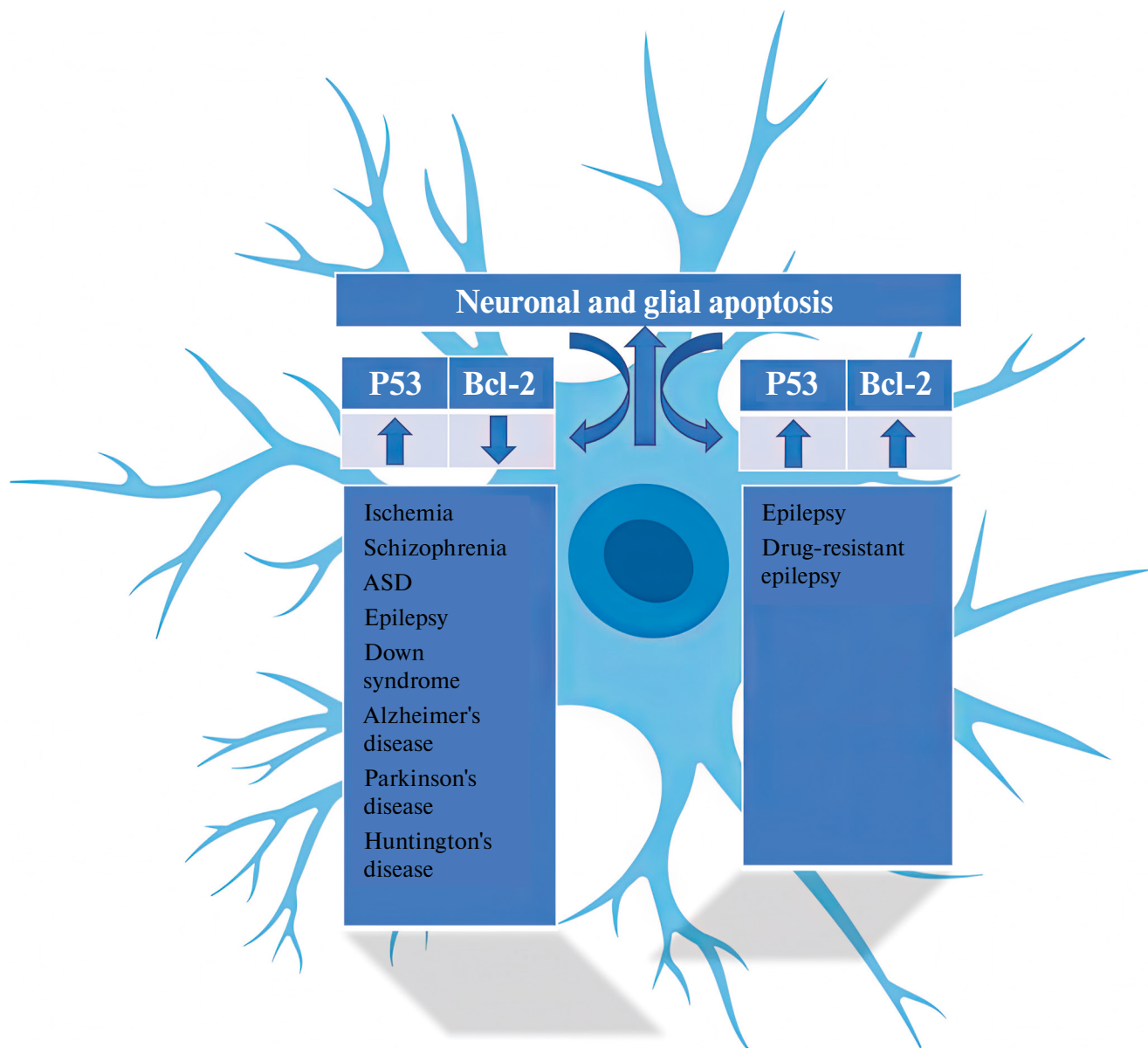


Рис. 3. Изменения уровней p53 и Bcl-2 при различных заболеваниях нервной системы.

тиапоптотическими (Bcl-2, Bcl-X, MDM-2). Из пяти генов с пониженной регуляцией все были проапоптотическими (Bax, каспаза-8, гранзим В, MEKK1, с-мус) [7].

Сообщалось о снижении уровня Bcl-2 в образцах мозжечка, лобной и теменной коры больных аутизмом [11].

Низкая экспрессия Bcl-2 отмечалась у пациентов с большим депрессивным расстройством, не получавших лечения. Изучение полиморфизмов в его гене у 178 пациентов с резистентной к лечению депрессией, 612 пациентов с поддающейся лечению, а также 725 здоровых людей из контрольной группы подтверждает гипотезу о том, что Bcl-2 мо-

жет играть важную роль в определении результатов лечения антидепрессантами, и этот результат может иметь диагностическое значение [57].

В нескольких исследованиях сообщалось о повышении уровней Bcl-2 в материале височных долей пациентов с эпилепсией, как взрослых, так и детей, особенно в случае фармакорезистентной эпилепсии. Изучение тканей коры пациентов с мезиальной височной эпилепсией демонстрирует, что повышенные уровни проапоптотических белков Bax и каспаза-9 и повышенные уровни антиапоптотических белков, таких как Bcl-2, связаны с активацией внутреннего пути апоптоза, который опосредован чрезмерным высвобождением глутамата

и повышенным сродством N-метил-D-аспаратных рецепторов (NMDARs) к нему. Анализ методом вестерн-блоттинга ткани височной коры головного мозга показал значительное увеличение уровней белка Bcl-2 у людей с лекарственно-устойчивыми формами эпилепсии. Также экспрессия Bcl-2 положительно связана с продолжительностью, частотой и тяжестью эпилептических приступов [58]. Кроме Bcl-2, в поражённом эпилепсией мозге наблюдается усиленная экспрессия другого антиапоптотического белка — Bcl-xL. Для этого, используя вестерн-блоттинг и иммуногистохимию, авторы оценили экспрессию bcl-2, bcl-xL, bax, каспазы-1 и каспазы-3 в образцах височной коры у пациентов, перенесших операцию височной лобэктомии по поводу некупируемой эпилепсии ($n = 19$). Неэпилептическая посмертная ткань из банка мозга служила в качестве контроля ($n = 6$) [59]. Неизвестно, является ли это защитной реакцией, хотя экспериментальное введение Bcl-2 защищает нейроны и глиальный компонент от апоптоза. Повреждение головного мозга после судорог может быть причиной появления ряда белков в спинномозговой жидкости или плазме. Повышенные уровни в сыворотке крови Bcl-2, высвобождающегося после гибели нейронов либо вследствие периферических реакций на судороги, были зафиксированы у детей с трудноизлечимой височной эпилепсией и коррелировали с продолжительностью заболевания, его тяжестью и частотой судорог. Также было обнаружено, что IQ больных детей ниже, чем в контрольной группе, и отрицательно коррелирует с уровнем Bcl-2 в сыворотке. В данном случае уровни Bcl-2 в сыворотке являются хорошим маркером тяжести судорог и нарушения когнитивных функций. В настоящее время неизвестно, оказывает ли повышенный уровень Bcl-2 в сыворотке пациентов какой-либо защитный эффект на мозг [60]. По данным исследования сыворотки крови 65 пациентов с эпилепсией и 30 здоровых добровольцев, высокие уровни Bcl-2 связаны с когнитивной дисфункцией, отмечавшейся у 18 пациентов. Время и частота эпилептических приступов у пациентов с когнитивной дисфункцией были достоверно выше, чем у пациентов без таковой. Когнитивную функцию оценивали с помощью Монреальской формы когнитивной оценки, и в течение 6 ч после приступа брались анализы крови для измерения скорости гидролиза сывороточного аденозинтрифосфата (АТФ), аденозиндифосфата (АДФ), аденозинмонофосфата (АМФ), активности фосфодиэстеразы (ФДЭ) и уровней сывороточного NSE, S100B и Bcl-2 [61].

Уровни Bcl-2 положительно коррелируют с продолжительностью эпилепсии, тяжестью приступов и их частотой, притом у пациентов с неконтролируемыми приступами они выше, что показало изуче-

ние сыворотки крови методом иммуноферментного анализа у 30 детей и подростков (средний возраст 8.03 и 14.49 года) с идиопатической эпилепсией фокальной или генерализованной. При этом они были сопоставимы у пациентов с разными типами приступов. Помимо антиапоптотического белка Bcl-2, эта же закономерность наблюдалась у проапоптотического белка Fas [62]. Нужно отметить, что многие заболевания ЦНС сопровождаются судорожными приступами, не только эпилепсия (прионные заболевания, синдром Дауна, некоторые виды деменции и др.), и каждый приступ может приводить к выраженной нейродегенерации [63, 64].

Насколько эффективно Bcl-2 выполняет свою функцию, неясно, однако анализ его экспрессии при склерозе гиппокампа вследствие височной эпилепсии показал, что увеличение соотношения Bcl-2/Bax в нейронах и глиальных клетках в образцах гиппокампа 27 пациентов с лекарственно-устойчивой височной эпилепсией, где белки интереса выявляли иммуногистохимическим методом, не предотвращает экспрессию активной каспазы-3 глией и гранулярными нейронами, но в полях СА активная каспаза-3 не обнаруживалась [65]. В настоящее время при эпилепсии доступные противосудорожные препараты ограничены по своим механизмам действия и воздействуют лишь на симптомы эпилепсии, не затрагивая её причин, в большинстве случаев, остающихся в тени, особенно если заболевание уже устойчиво к лекарствам. Однако в основе патогенеза эпилепсии, независимо от причин, лежат общие механизмы, включающие в себя нарушение экспрессии различных апоптоз-ассоциированных молекул, элементы нейровоспаления, пересекающиеся с другими патологическими состояниями, например, злокачественными новообразованиями и аутоиммунными заболеваниями. Воздействие на аналогичные механизмы при раке привело к разработке новых способов лечения, несмотря на не меньшую лекарственную устойчивость и скорость её приобретения изменёнными дисфункциональными клетками. Тот же подход может оказаться эффективным при эпилепсии.

Экспрессия Bcl-2 снижена при различных нейродегенеративных заболеваниях, включая болезнь Паркинсона, Альцгеймера, Гентингтона, боковой амиотрофической склероз, а уровни проапоптотических членов этого семейства, таких как Bax, напротив, высоки как в посмертных образцах от пациентов, так и в моделях трансгенных животных [18].

Анализ литературы позволяет предположить, что Bcl-2 не играет в головном мозге столь значимой роли, и его экспрессия снижается в процессе онтогенеза, в отличие от периферической нервной системы. При многих заболеваниях (шизофрения, расстройства аутистического спектра, нейродеге-

неративные заболевания и др.) отмечено снижение уровня экспрессии Bcl-2 (рис. 3). При эпилепсии же многие авторы наблюдают повышение уровней Bcl-2 как в мозге, так и в сыворотке крови и спинномозговой жидкости (рис. 3). Таким образом, можно предположить, что белок Bcl-2 как терапевтическая мишень менее перспективен, чем p53.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гибель нейронов и глиальных клеток широко распространена в норме и патологии, и имеет большое значение для функционирования нервной системы из-за ограниченной способности к пролиферации взрослых нейронов млекопитающих, в том числе человека. Механизмы апоптоза при различных патологиях ЦНС, как, например, инсульт и болезнь Альцгеймера, недостаточно изучены, поэтому в настоящее время нет эффективных методов и средств нейропротекции при патологии.

Анализ данных литературы показывает, что в основе различных заболеваний нервной системы лежат общие механизмы дисрегуляции апоптоза с чрезмерной активацией проапоптотических белков, таких как p53, и снижением экспрессии антиапоптотических, обеспечивающих выживание клеток, как Bcl-2, а также дефектами митохондрий. Выявление этих общих молекулярных механизмов может помочь разработать эффективные методы лечения и снижения последствий множества заболеваний, от депрессии до эпилепсии и деменций. Однако, по данным исследований, эти закономерности не являются абсолютными и не работают в некоторых случаях, что ставит вопросы о роли апоптоза и наличии не связанных с p53 и Bcl-2 механизмов, отвечающих за выживание и гибель клеток.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа была выполнена в соответствии с тематическим планом прикладных научно-исследовательских работ по Гос. заданию ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России и при поддержке Гос. задания ИЭФБ РАН 075-00264-24-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование обзора (А.А.К. и Е.Д.Б.), сбор и анализ литературных данных (А.А.К.

и Е.Д.Б.), написание и редактирование манускрипта (А.А.К. и Е.Д.Б.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stoeckli ET* (2012) What does the developing brain tell us about neural diseases? *Eur J Neurosci* 35: 1811–1817. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08171.x>
2. *Fricke M, Tolkovsky AM, Borutaite V, Coleman M, Brown GC* (2018) Neuronal Cell Death. *Physiol Rev* 98: 813–880. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2017>
3. *Bazhanova ED, Kozlov AA, Litovchenko AV* (2021) Mechanisms of Drug Resistance in the Pathogenesis of Epilepsy: Role of Neuroinflammation. A Literature Review. *Brain Sci* 11: 1–13. <https://doi.org/10.3390/brainsci11050663>
4. *Uzdensky AB* (2019) Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro- and antiapoptotic proteins. *Apoptosis* 24: 687–702. <https://doi.org/10.1007/s10495-019-01556-6>
5. *Tuo Q-Z, Zhang S-T, Lei P* (2022) Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications. *Med Res Rev* 42: 259–305. <https://doi.org/10.1002/med.21817>
6. *Mao R, Zong N, Hu Y, Chen Y, Xu Y* (2022) Neuronal Death Mechanisms and Therapeutic Strategy in Ischemic Stroke. *Neurosci Bull* 38: 1229–1247. <https://doi.org/10.1007/s12264-022-00859-0>
7. *Jarskog LF* (2006) Apoptosis in schizophrenia: pathophysiologic and therapeutic considerations. *Curr Opin Psychiatry* 19: 307–312. <https://doi.org/10.1097/01.yco.0000218603.25346.8f>
8. *Ahmed Mohamed Nabil Helaly AMH, El Din Ghorab DS* (2023) Schizophrenia as metabolic disease. What are the causes? *Metab Brain Dis* 38: 795–804. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-01147-6>
9. *Dong D, Zielke HR, Yeh D, Yang P* (2018) Cellular stress and apoptosis contribute to the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Autism Res* 11: 1076–1090. <https://doi.org/10.1002/aur.1966>
10. *Wei H, Alberts I, Li X* (2014) The apoptotic perspective of autism. *Int J Dev Neurosci* 36: 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.04.004>
11. *Feit R, Hillary RF, Price DJ, Lawrie SM* (2021) The neuropathology of autism: A systematic review of post-mortem studies of autism and related disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 129: 35–62. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.07.014>
12. *Scaini G, Mason BL, Diaz AP, Jha MK, Soares JC, Trivedi MH, Quevedo J* (2023) Dysregulation of mitochondrial dynamics, mitophagy and apoptosis in major depressive disorder: Does inflammation play a role? *Mol Psychiatry* 27: 1095–1102. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01312-w>
13. *Zhao B, Fan Q, Liu J, Yin A, Wang P, Zhang W* (2022) Identification of Key Modules and Genes Associated with Major Depressive Disorder in Adolescents. *Genes (Basel)* 13: 464. <https://doi.org/10.3390/genes13030464>

14. *Bazhanova ED, Kozlov AA* (2022) Mechanisms of apoptosis in drug-resistant epilepsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 122: 43–50 (In Russ). <https://doi.org/10.17116/jnevro202212205143>
15. *Henshall DC, Simon RP* (2005) Epilepsy and apoptosis pathways. *J Cereb Blood Flow Metab* 25: 1557–1572. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600149>
16. *Zhao Y, Jiang W-J, Ma L, Lin Y, Wang X-B* (2020) Voltage-dependent anion channels mediated apoptosis in refractory epilepsy // *Open Med (Wars)* 15: 745–753. <https://doi.org/10.1515/med-2020-0113>
17. *Wang W, Ma Y-M, Jiang Z-L, Gao Z-W, Chen W-G* (2021) Apoptosis-antagonizing transcription factor is involved in rat post-traumatic epilepsy pathogenesis. *Exp Ther Med* 21: 290. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.9721>
18. *Erekat NS* (2022) Apoptosis and its therapeutic implications in neurodegenerative diseases. *Clin Anat* 35: 65–78. <https://doi.org/10.1002/ca.23792>
19. *Medrano S, Scrable H* (2005) Maintaining appearances — the role of p53 in adult neurogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 331: 828–833. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.03.194>
20. *Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan M, Harris C, Hainaut P* (2022) The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 19: 607–614. <https://doi.org/10.1002/humu.10081>
21. *Ho T, Tan B, Lane D* (2020) How the other half lives: what p53 does when it is not being a transcription factor. *Int J Mol Sci* 21:E13. <https://doi.org/10.3390/ijms21010013>
22. *Matoba S, Kang Ju-G, Patino W, Wragg A, Boehm M, Gavrilova O, Hurley P, Bunz F, Hwang P* (2006) p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 312: 1650–1653. <https://doi.org/10.1126/science.1126863>
23. *Feng Z, Levine A* (2010) The regulation of energy metabolism and the IGF-1/mTOR pathways by the p53 protein. *Trends Cell Biol* 20: 427–434. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.03.004>
24. *Jiang Y, Armstrong D, Albrecht U, Atkins C, Noebels L, Eichele G, Sweatt D, Beaudet, A* (1998) Mutation of the Angelman ubiquitin ligase in mice causes increased cytoplasmic p53 and deficits of contextual learning and long-term potentiation. *Neuron* 21: 799–811. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80596-6](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80596-6)
25. *Mattson M, Gary D, Chan S, Duan W* (2001) Perturbed endoplasmic reticulum function, synaptic apoptosis and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochem Soc Symp* 67 :151–162. <https://doi.org/10.1042/bss0670151>
26. *Crumrine R, Thomas A, Morgan P* (1994) Attenuation of p53 expression protects against focal ischemic damage in transgenic mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 14: 887–891. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1994.119>
27. *D'Sa-Eipper C, Leonard J, Putcha G, Zheng T, Flavell R, Rakic P, Kuida K, Roth K* (2001) DNA damage-induced neural precursor cell apoptosis requires p53 and caspase 9 but neither Bax nor caspase 3. *Development* 128: 137–146. <https://doi.org/10.1242/dev.128.1.137>
28. *Morrison R, Wenzel H, Kinoshita Y, Robbins C, Donehower L, Schwartzkroin P* (1996) Loss of the p53 tumor suppressor gene protects neurons from kainate-induced cell death. *J Neurosci* 16: 1337–1345. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-04-01337.1996>
29. *Xu X, Yang D, Wyss-Coray T, Yan J, Gan L, Sun Y, Mucke L* (1999) Wild-type but not Alzheimer-mutant amyloid precursor protein confers resistance against p53-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 7547–7552. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.13.7547>
30. *Chatterjee N, Walker G* (2017) Mechanisms of DNA damage, repair and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen* 58: 235–263. <https://doi.org/10.1002/em.22087>
31. *Gareau J, Lima C* (2010) The SUMO pathway: emerging mechanisms that shape specificity, conjugation and recognition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12: 861–871. <https://doi.org/10.1038/nrm3011>
32. *Uberti D, Belloni M, Grilli M, Spano P, Memo M* (2009) Induction of tumoursuppressor phosphoprotein p53 in the apoptosis of cultured rat cerebellar neurones triggered by excitatory amino acids. *Eur. J. Neurosci* 10: 246–254. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00042.x>
33. *Li H, Zhang Z, Li H, Pan X, Wang Y* (2023) New Insights into the Roles of p53 in Central Nervous System Diseases. *Int J Neuropsychopharmacol* 26: 465–473. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyad030>
34. *Almeida A, Sánchez-Morán I, Rodríguez C* (2021) Mitochondrial-nuclear p53 trafficking controls neuronal susceptibility in stroke. *IUBMB Life* 73: 582–591. <https://doi.org/10.1002/iub.2453>
35. *Ni X, Trakalo J, Valente J, Azevedo MH, Pato MT, Pato CN, Kennedy JL* (2005) Human p53 tumor suppressor gene (TP53) and schizophrenia: case-control and family studies. *Neurosci Lett* 388: 173–178. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.06.050>
36. *Ozbey U, Yüce H, Namlı M, Elkiran T* (2011) Investigation of Differences in P53 Gene Polymorphisms between Schizophrenia and Lung Cancer Patients in the Turkish Population. *Genet Res Int*: 483851. <https://doi.org/10.4061/2011/483851>
37. *Engel T, Murphy BM, Schindler CK, Henshall DH* (2007) Elevated p53 and lower MDM2 expression in hippocampus from patients with intractable temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 77: 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2007.09.001>
38. *Ding D-X, Tian F-F, Guo J-L, Li K, He J-X, Song M-Y, Li L, Huang X* (2014) Dynamic expression patterns of ATF3 and p53 in the hippocampus of a pentylentetrazole-induced kindling model. *Mol Med Rep* 10: 645–651. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2256>
39. *Sokolova TV, Zabrodskaya YM, Litovchenko AV, Paramonova NM, Kasumov VR, Kravtsova SV, Skiteva EN, Sitovskaya DA, Bazhanova ED* (2022) Relationship between Neuroglial Apoptosis and Neuroinflammation in the Epileptic Focus of the Brain and in the Blood of Patients with Drug-Resistant Epilepsy. *Int J Mol Sci* 23: 12561. <https://doi.org/10.3390/ijms232012561>
40. *Martinez B, Peplow PV* (2023) MicroRNAs in mouse and rat models of experimental epilepsy and potential therapeutic targets. *Neural Regen Res* 18: 2108–2118. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.369093>

41. Engel T, Tanaka K, Jimenez-Mateos EM, Caballero-Caballero A, Prehn JHM., Henshall DC (2010) Loss of p53 results in protracted electrographic seizures and development of an aggravated epileptic phenotype following status epilepticus. *Cell Death Dis* 1: e79. <https://doi.org/10.1038/cddis.2010.55>
42. Luo Q, Sun W, Wang Y-F, Li J, Li D-W (2022) Association of p53 with Neurodegeneration in Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis* 2022: 6600944. <https://doi.org/10.1155/2022/6600944>
43. Talebi M, Talebi M, Kakouri E, Farkhondeh T, Pourbagher-Shahri AM, Tarantilis PA, Samarghandian S (2021) Tantalizing role of p53 molecular pathways and its coherent medications in neurodegenerative diseases. *Int J Biol Macromol* 172: 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.042>
44. Li K, van Delft MF, Dewson G (2021) Too much death can kill you: inhibiting intrinsic apoptosis to treat disease. *EMBO J* 40: e107341. <https://doi.org/10.15252/embj.2020107341>
45. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM (1984) Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 226: 1097–1099. <https://doi.org/10.1126/science.6093263>
46. Suraweera CD, Banjara S, Hinds MG, Kvensakul M (2022) Metazoans and Intrinsic Apoptosis: An Evolutionary Analysis of the Bcl-2 Family. *Int J Mol Sci* 23: 3691. <https://doi.org/10.3390/ijms23073691>
47. Choudhury S (2019) A comparative analysis of BCL-2 family. *Bioinformation* 15: 299–306. <https://doi.org/10.6026/97320630015299>
48. Glab J, Cao Z, Puthalakath H (2020) Bcl-2 family proteins, beyond the veil. *Int Rev Cell Mol Biol* 351:1–22. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2019.12.001>
49. Du X, Xiao J, Fu X, Xu B, Han H, Wang Y, Pei X (2021) A proteomic analysis of Bcl-2 regulation of cell cycle arrest: insight into the mechanisms. *J Zhejiang Univ Sci B* 22: 839–855. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2000802>
50. Merry DE, Korsmeyer SJ (1997) Bcl-2 gene family in the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 20: 245–267. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.20.1.245>
51. Hollville E, Romero SE, Deshmukh M (2019) Apoptotic cell death regulation in neurons. *FEBS J* 286: 3276–3298. <https://doi.org/10.1111/febs.14970>
52. Akhtar RS, Ness JM, Roth KA (2004) Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 1644: 189–203. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2003.10.013>
53. Merry DE, Korsmeyer SJ (1997) Bcl-2 gene family in the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 20: 245–267. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.20.1.245>
54. Shacka JJ, Roth KA (2005) Regulation of neuronal cell death and neurodegeneration by members of the Bcl-2 family: therapeutic implications. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4: 25–39. <https://doi.org/10.2174/1568007053005127>
55. Peng T, Li S, Liu L, Yang C, Farhan M, Chen L, Su Q, Zheng W (2022) Artemisinin attenuated ischemic stroke induced cell apoptosis through activation of ERK1/2/CREB/BCL-2 signaling pathway in vitro and in vivo. *Int J Biol Sci* 18: 4578–4594. <https://doi.org/10.7150/ijbs.69892>
56. Yan H, Huang W, Rao J, Yuan J (2021) miR-21 regulates ischemic neuronal injury via the p53/Bcl-2/Bax signaling pathway. *Aging (Albany NY)* 13: 22242–22255. <https://doi.org/10.18632/aging.203530>
57. Zhang C, Wu Z, Hong W, Wang Z, Peng D, Chen J, Yuan C, Yu S, Xu L, Fang Y (2014) Influence of BCL2 gene in major depression susceptibility and antidepressant treatment outcome. *J Affect Disord* 155: 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.11.010>
58. Vega-García A, Orozco-Suárez S, Villa A, Rocha L, Feria-Romero I, Alonso Vanegas MA, Guevara-Guzmán R (2021) Cortical expression of IL1- β , Bcl-2, Caspase-3 and 9, SEMA-3a, NT-3 and P-glycoprotein as biological markers of intrinsic severity in drug-resistant temporal lobe epilepsy. *Brain Res* 1758: 147303. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147303>
59. Henshall DC, Clark RS, Adelson PD, Chen M, Watkins SC, Simon RP (2000) Alterations in bcl-2 and caspase gene family protein expression in human temporal lobe epilepsy. *Neurology* 55: 250–257. <https://doi.org/10.1212/wnl.55.2.250>
60. Kilany A, Raouf ERA, Gaber AA, Aloush TK, Aref HA, Anwar M, Henshall DC, Abdulghani MO (2012) Elevated serum Bcl-2 in children with temporal lobe epilepsy. *Seizure* 21: 250–253. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2012.01.004>
61. Zhang Y, Zhang S, Ji Y, Yang X, Liu P, Yu G (2020) Relationship of serum ATPase activity and the levels of neuron-specific enolase, S100B and B-cell lymphoma/leukemia-2 with cognitive function after epileptic seizure. *Ann Palliat Med* 9: 3366–3372. <https://doi.org/10.21037/apm-20-1494>
62. El-Hodhod MA, Tomoum HY, Al-Aziz MMA, Samaan SM (2006) Serum Fas and Bcl-2 in patients with epilepsy. *Acta Neurol Scand* 113: 315–321. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2006.00592.x>
63. Neri S, Mastroianni G, Gardella E, Aguglia U, Rubboli G (2022) Epilepsy in neurodegenerative diseases. *Epileptic Disord* 24: 249–273. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1406>
64. Corniello C, Dono F, Evangelista G, Consoli S, De Angelis S, Cipollone S, Liviello D, Polito G, Melchiorre S, Russo M, Granzotto A, Anzellotti F, Onofri M, Thomas A, Sensi S (2023) Diagnosis and treatment of late-onset myoclonic epilepsy in Down syndrome (LOMEDS): A systematic review with individual patients' data analysis. *Seizure* 109: 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2023.05.017>
65. Toscano EC de B, Vieira ELM., Portela ACDC, Reis JJJ, Caliarì MV, Giannetti AV, Gonçalves AP, Siqueira JM, Suetomoto CK, Leite REP, Nitrini R, Teixeira AL, Rachid MA (2019) Bcl-2/Bax ratio increase does not prevent apoptosis of glia and granular neurons in patients with temporal lobe epilepsy. *Neuropathology* 39: 348–357. <https://doi.org/10.1111/neup.12592>

ROLE OF APOPTOSIS-ASSOCIATED PROTEINS P53 AND BCL-2 IN THE PATHOGENESIS OF NERVOUS SYSTEM DISEASES

E. D. Bazhanova^{a, b, #} and A. A. Kozlov^a

^a *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
Saint-Petersburg, Russia*

^b *Golikov Research Center of Toxicology, Saint-Petersburg, Russia*

[#] *e-mail: bazhanovae@mail.ru*

Diseases of the central nervous system occupy a leading place, along with cardiovascular and oncological diseases, and the proportion of patients suffering from diseases of the nervous system is increasing as the population ages. This group of diseases includes acute conditions, such as ischemic stroke, and chronic multifactorial diseases — Alzheimer's and Parkinson's diseases, epilepsy, etc. The development of specific methods for their treatment is difficult, and these drugs are not very effective. Almost all brain diseases are based on common mechanisms such as oxidative stress, inflammation and neuronal death. Most often, cells die by apoptosis due to an imbalance between pro-apoptotic and anti-apoptotic factors. This work examines two of them: the apoptosis-promoting transcription factor and tumor suppressor p53 and its opposing B-cell lymphoma protein Bcl-2. The choice of these proteins for study is due to the fact that both proteins are key regulators of apoptosis and are important in the pathogenesis of nervous diseases, since neurons are not highly proliferating cells. The p53 protein is involved in the regulation of many genes responsible for DNA repair, apoptosis, and other biochemical cellular processes; this is especially important when studying neuronal pathology. Bcl-2 suppresses apoptosis in various cells, including neurons, by controlling mitochondrial membrane permeability and inhibiting caspases. In diseases, its expression can either increase, for example, in the case of malignant tumors, or decrease, as in the case of neurodegenerative processes. It has been established that p53 and Bcl-2 are in close interaction in the process of regulating apoptosis; their ratio may be an important prognostic factor. The purpose of this work was to assess the role of these proteins in the pathogenesis of various diseases of the nervous system, and to search for general patterns of changes in their expression and coexpression.

Keywords: apoptosis, p53, Bcl-2, pathogenesis, nervous system diseases, epilepsy