

Анализ промоторной области гена c-fos показал ее сложную организацию. В этом регионе находятся многочисленные взаимозависимые регуляторные элементы, ответственные за индукцию c-fos и базальный уровень его экспрессии (рис. 1) [41].

В состав промотора c-fos входят несколько сайтов, связывающих неидентифицированные факторы. Эти сайты названы FBS 1–6 (fos promotor binding site 1–6), и первый из них (FBS-1) расположен в позиции –499/–508 п.н. от точки начала транскрипции. С элементом FBS-2 взаимодействует неизвестный белок с молекулярной массой 59 кДа, и это взаимодействие коррелирует с митотической активностью клеток [57, 58].

Помимо элементов, определяющих (в большинстве случаев) индукцию гена c-fos, некоторые промоторные элементы служат для связывания факторов, подавляющих транскрипцию. Один из таких элементов — RCE (retinoblastoma control element), связывающий продукт гена восприимчивости к ретинобластоме — белок Rb. Кроме того, элементы SRE и CRE в определенных физиологических условиях также определяют угнетение транскрипции c-fos гена.

Таким образом, в связи с большим количеством путей, активирующих ген c-fos, его промоторная область обладает сложной организацией. При этом некоторые промоторные элементы c-fos гена находятся под контролем как РКС-зависимых путей, так и сАМР-зависимых путей. Поэтому на уровне промотора гена c-fos и осуществляется взаимодействие этих сигнальных путей [52, 54].

Помимо участия в процессах апоптической гибели нейронов, гену c-fos принадлежит важная роль и в физиологических функциях организма. Так, Анохин и соавторы установили, что данный ген идеально подходит на роль универсального зонда для картирования мозга. Ген c-fos обладает рядом уникальных свойств. Во-первых, в спокойном состоянии клетки он «молчит», у него практически нет «фоновой» активности. Во-вторых, если в клетке начинаются какие-либо новые информационные процессы, он очень быстро откликается на них, нарабатывая РНК и белки. В-третьих, он универсален, то есть активируется в самых разных отделах центральной нервной системы — от спинного мозга до коры. В-четвертых, его активация связана с обучением, то есть с формированием индивидуального опыта. Многочисленные экспериментальные исследования показали, что ген c-fos не реагирует на очень сильную стимуляцию, например световую, звуковую или болевую, в тех случаях, когда воздействие не несет в себе элементов новизны. Но как только ситуация обогащается новой информацией, ген «просыпается» [2, 55]. На системном уровне активность генов в мозге при обучении переходит под когнитивный контроль. Так, в эксперименте мышей помещали в камеру, где им пришлось перенести серию слабых электрокожных раздражений. В ответ на это в нескольких областях мозга — в коре, гиппокампе и мозжечке бурно экспрессировался c-fos. Однако если эту процедуру проводить ежедневно, то на шестой день ген уже не отвечает, мыши по-прежнему реагируют на удар током, но он для них становится уже не новым, а ожидаемым событием. Можно вновь вызвать активацию c-fos, если в очередной раз поместить мышей в камеру и не подвергать их уже привычной процедуре. И в том и в другом случае ген отмечает событие, когда внешние стимулы не согласуются с матрицей индивидуальной памяти. Такое рассогласование происходит при любом усвоении новой информации, и поэтому ген c-fos — неизбежный спутник познавательных процессов в мозге [1]. Исследования М. Erdtmanna-Vouliotis и соавторов показали усиление экспрессии гена c-fos при наркотизации крыс. Так, при повторном введении морфина увеличивалась экспрессия c-fos в стриатуме, прилежащем ядре, зрительном

бугорке, в цингулярной, периформной, фронтальной коре и других структурах головного мозга крыс линии Вистар. Кроме того, исследователи отметили резкое усиление экспрессии гена c-fos на протяжении нескольких дней после прекращения наркотизации [43, 44].

Подобная динамика изменения экспрессии гена была отмечена нами в экспериментах при моделировании алкоголизма у крыс. Исследования экспрессии c-fos на 3-и сутки введения 40% этанола животным показали статистически достоверное по отношению к интактным животным усиление экспрессии гена в зоне CA₁ гиппокампа (зона, отвечающая за такие интегративные функции головного мозга, как обучение, мышление, память) (рис. 2). Обучение интактных животных и животных, подвергшихся насильственной 30-суточной алкоголизации, в двухкамерной челночной системе для выработки у них условной реакции

когнитивного дефицита у алкоголизованных крыс существенная роль принадлежит подавлению экспрессии гена раннего реагирования c-fos, что связано с его транскрипционной ролью в синтезе регуляторных белков, участвующих в механизме консолидации памяти [33, 44, 52]. Данное предположение подтверждается и опытами других исследователей, в которых показано, что подавление трансляции мРНК c-fos в структурах мозга нарушает кратковременную память на различных моделях обучения у разных видов животных [46, 55].

Таким образом, представленные выше экспериментальные исследования позволяют сделать предположение, что ген c-fos является тем самым «мостиком», через который индивидуальный опыт животного вступает во взаимодействие со всем генетическим аппаратом.

Однако не всегда усиление экспрессии гена c-fos выполняет физиологическую

c-fos в условиях моделирования ишемии головного мозга. Как показали исследования, экспрессия гена при данной модели патологии носила разнонаправленный характер.

Так, в условиях острой ишемии головного мозга (необратимая билатеральная окклюзия общих сонных артерий) показано увеличение содержания белка c-fos в первые 1–2 часа после начала ишемии и в течение 24 часов (увеличение c-fos-позитивных клеток в 4–5-м слое сенсомоторной зоны коры в 10–15 раз) и максимальное снижение содержания белка c-fos к 4-м суткам (снижение c-fos-позитивных клеток в 3,6 раза). Начиная с 7-х суток экспериментальной ишемии наблюдается постепенное восстановление количества c-fos в нейронах 4–5-го слоя сенсомоторной зоны коры с максимальным проявлением активности на 21-е сутки. Однако и на 21-е сутки ишемии содержание c-fos остается низким и не достигает уровня первых часов после окклюзии. Изменение содержания c-fos в нейронах в разные сроки ишемии, с нашей точки зрения, тесно связано с преобладанием типа гибели клеток по типу апоптоза, а снижение — к усилению гибели по типу некроза. В восстановительный период происходит адаптация клетки и переключение гибели с пути некроза на апоптоз и снижение последнего [4].

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что активация гена c-fos происходит при любых воздействиях на клетку. Характер экспрессии гена будет определять дальнейшую судьбу клетки: либо в ней будут активироваться трансляционные, транскрипционные процессы, синтез пластических материалов, либо она апоптически погибнет (гиперэкспрессия). Таким образом, учитывая чрезвычайно важную роль экспрессии гена c-fos в физиологических и патологических процессах, актуальной задачей экспериментальной медицины является поиск путей фармакологической коррекции различных патологических состояний, который будет направлен на коррекцию гипер- либо недостаточной экспрессии гена c-fos.

В последнее время активно ведется поиск высокоэффективных нейропротекторов среди нейропептидов. Новым направлением в исследовании нейропептидов стало определение их роли в регуляции апоптоза, а также их влияния на экспрессию генов раннего реагирования. Наряду с данными, свидетельствующими об участии вазоактивного пептида эндотелина-1 и его рецепторов (ЕТА) в ишемической патологии мозга, получена информация об антиапоптической активности этого пептида. На ряде моделей нейроапоптоза было также продемонстрировано защитное действие кальцитонинового нейропептида (CGRP) и пептидного фрагмента ангиотензина IV. В то же время было установлено, что сам ангиотензин II так же, как и пептид кальцийнейрин, напротив, способствует индукции проапоптического каскада. Эти факты, демонстрирующие значимость нейропептидов и ростовых факторов в нормальной и патологической деятельности мозга, отражают организацию поливариантной системы химической регуляции, обеспечивающей как жизнеспособность и защиту нейронов от неблагоприятных влияний, так и программируемую гибель определенной части клеточной популяции в случае повреждения мозга [13]. Открытие нейротрофических пептидных факторов побудило к формированию новой стратегии фармакотерапии — пептидгергической, или нейротрофической, терапии нейродегенеративных патологий. Исходная идеология связывает нейродегенеративные патологии, включая болезнь Альцгеймера, с активностью различных нейротрофических факторов мозга и нейропептидов. На этой основе был разработан ряд препаратов, успешно применяемых в терапии большого спектра неврологических

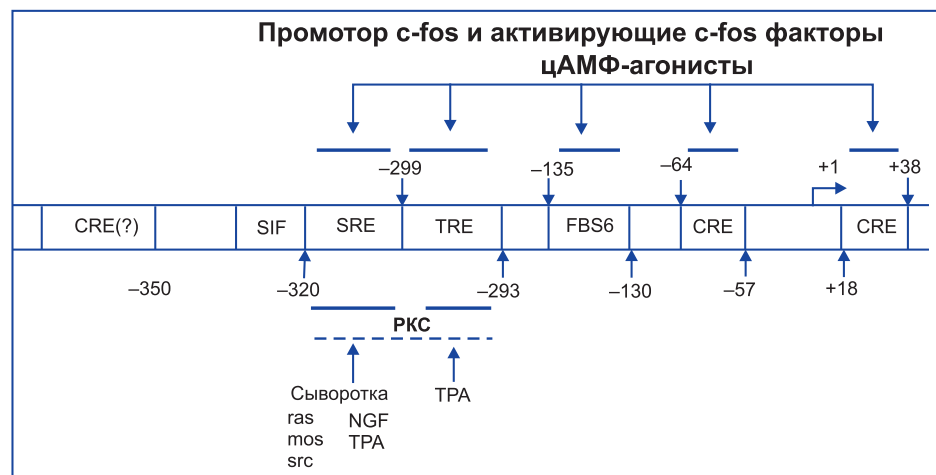


Рисунок 1. Ген c-fos: промоторная область, схема

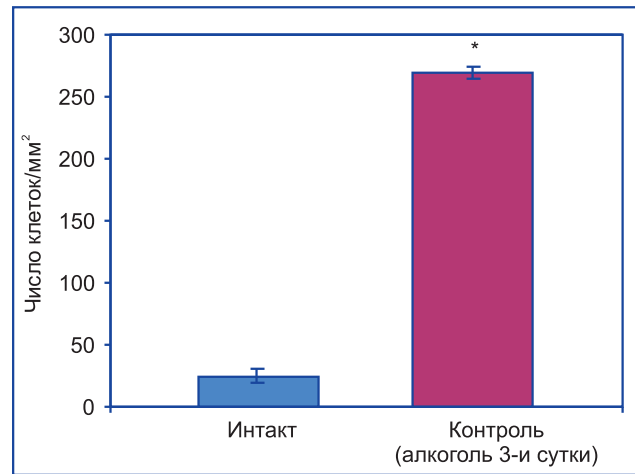


Рисунок 2. Экспрессия гена c-fos у животных на 3-й день алкоголизации
Примечание: * $p \leq 0,05$ по отношению к интакту.

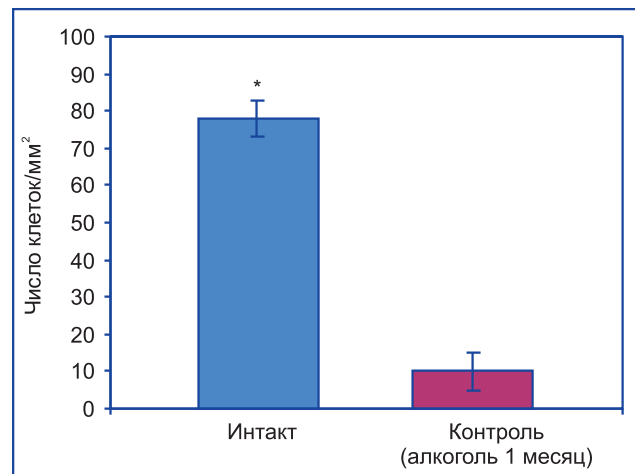


Рисунок 3. Экспрессия гена c-fos у крыс с месячной алкоголизацией после обучения в тесте УРПИ
Примечание * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю.

пассивного избегания (УРПИ) показало снижение экспрессии гена на фоне угнетения УРПИ и существенное повышение числа c-fos-позитивных нейронов в зоне CA₁ гиппокампа в интактной группе животных, подвергшихся обучению (рис. 3). Важно отметить, что у животных с месячной насильственной алкоголизацией в тесте УРПИ показано наличие стойкого когнитивного дефицита, что выражалось в снижении латентного времени захода животных в темный отсек. Можно предположить, что в механизме развития

прессии c-fos в условиях хронического стресса обусловлена гиперпродукцией АФК в тканях головного мозга. Известно, что в условиях окислительного стресса одной из первых реакций генома является индукция гиперэкспрессии генов немедленного реагирования c-fos за счет содержания в своих ДНК-связывающих доменах высокочувствительных к АФК остатков цистеина Cys252, Cys154, Cys61 [6].

Нашими экспериментальными работами также была изучена экспрессия гена

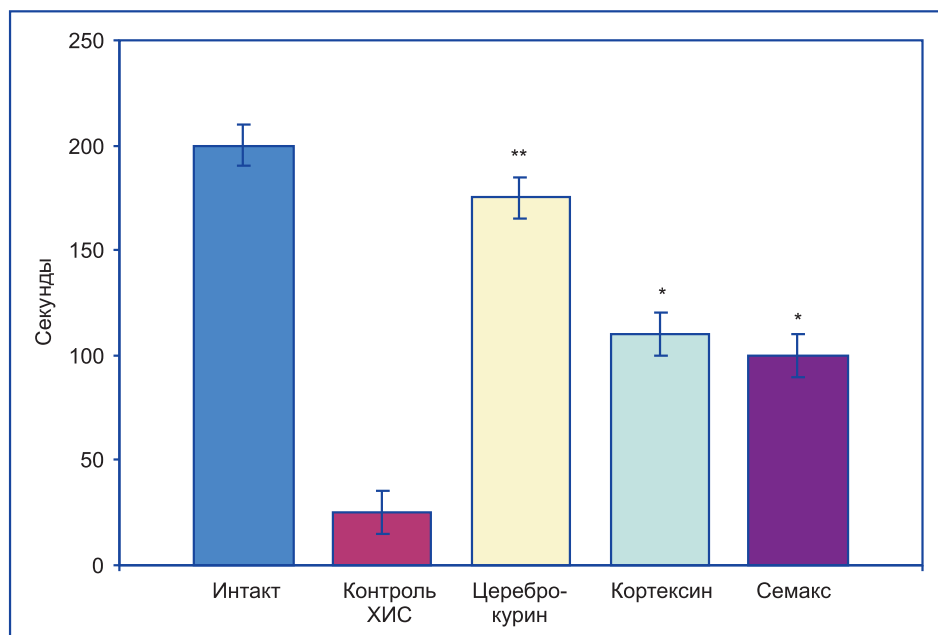


Рисунок 6. Влияние нейропептидов на воспроизведение УРПИ у крыс, перенесших ХИС
Примечания: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю; ** — $p \leq 0,05$ по отношению к кортексину, семаксу.

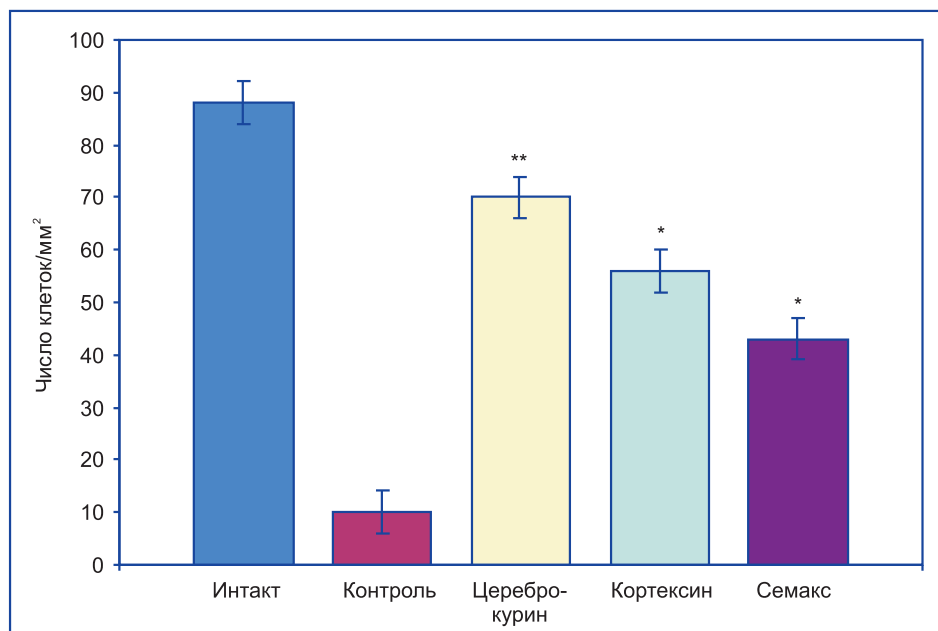


Рисунок 7. Влияние нейропептидов на экспрессию генов раннего реагирования c-fos у крыс в условиях 30-дневного введения этанола.
Примечания: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю; ** — $p \leq 0,05$ по отношению к кортексину, семаксу.

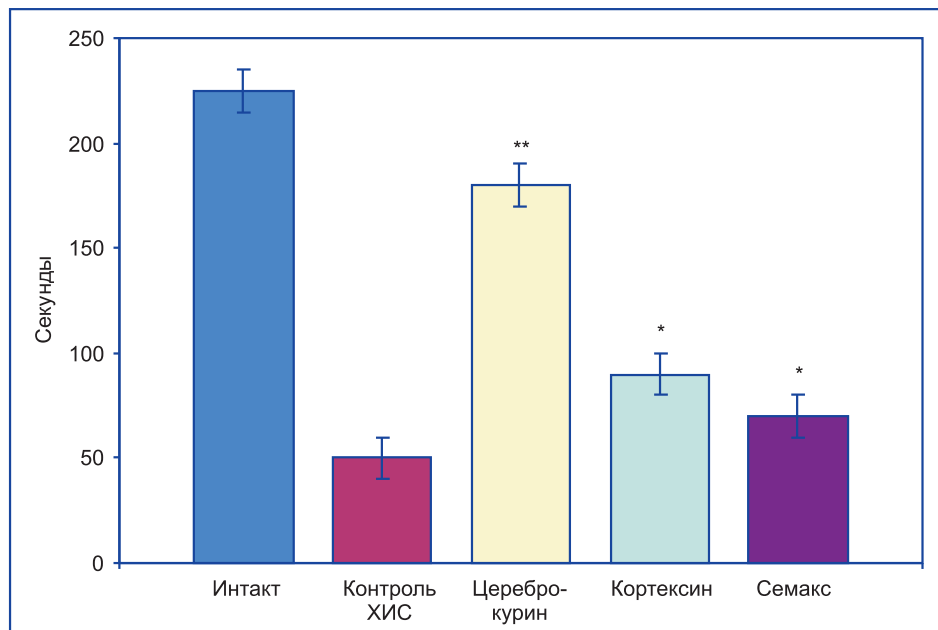


Рисунок 8. Влияние нейропептидов на воспроизведение УРПИ у крыс с месячным введением этанола
Примечания: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю; ** — $p \leq 0,05$ по отношению к кортексину, семаксу.

с контрольной группой животных. Как видно из рис. 4 и 5, наиболее активным нейропептидом оказался Цереброкурин, который снижает количество c-fos-позитивных нейронов более чем на 70 % по отношению к контролю.

За счет подавления экспрессии генов раннего реагирования c-fos Цереброкурин, кортексин и семакс способны в определенной степени влиять на процессы апоптотической гибели нейрона, в условиях стресса. Это подтверждается нашими исследованиями содержания антиапоптотического bcl-2 белка в зоне CA₁ гиппокампа. Введение нейропептидов увеличивало количество bcl-2 белка в зоне

CA₁ гиппокампа по сравнению с контрольной группой животных ($p \leq 0,01$), при этом Цереброкурин статистически достоверно ($p \leq 0,01$) превышал показатель кортексина и семакса [6, 15].

Защитное действие Цереброкурина, кортексина, семакса проявлялось в восстановлении когнитивных функций животных, что выражалось увеличением латентного времени захода животных в темный отсек (рис. 6).

Как нами было описано выше, 30-дневное введение крысам алкоголя приводило к снижению экспрессии генов раннего реагирования c-fos и, следовательно, к нарушению процессов обучения

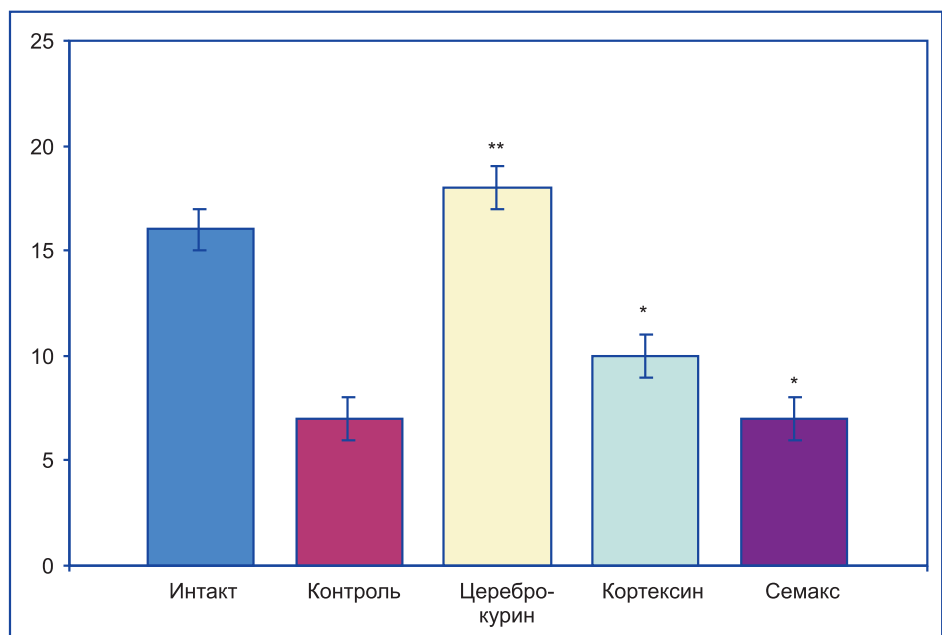


Рисунок 9. Содержание c-fos белка в нейронах крыс с моделированием ишемии головного мозга на 21-е сутки эксперимента.
Примечания: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю; ** — $p \leq 0,05$ по отношению к кортексину, семаксу.

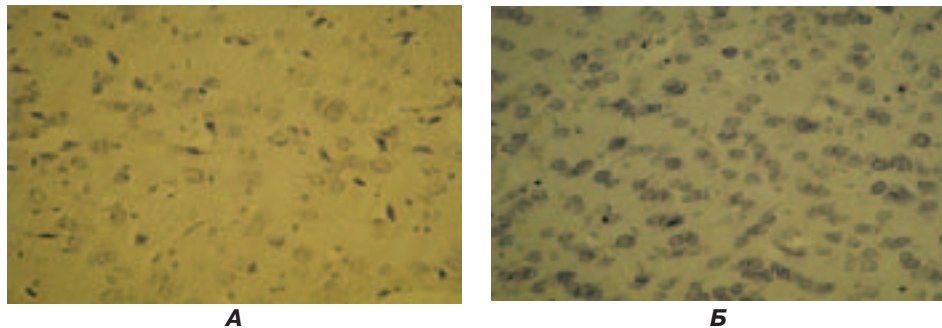


Рисунок 10. Морфофункциональное состояние нейронов коры головного мозга крыс с экспериментальной ишемией на 21-е сутки. Окраска галлоксианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Увеличение $\times 100$. А — контрольная группа животных (ишемия, 21-е сутки); Б — Цереброкурин + ишемия (21-е сутки)

Таблица 1. Влияние нейропептидов на нейроны коры головного мозга крыс с экспериментальной ишемией на 21-е сутки

Экспериментальные группы животных	Плотность нейронов, клетки/мм ²	Площадь тел нейронов, мкм ²	Содержание РНК в нейронах, Еоп
Интакт	1292 ± 34	74,87 ± 1,32	9,72 ± 0,14
Контроль (ишемия)	980 ± 19	51,7 ± 1,08	5,1 ± 0,3
Ишемия + Цереброкурин	1307 ± 22*	70,82 ± 0,72*	9,17 ± 0,17*
Ишемия + кортексин	1100 ± 11*	65,12 ± 0,94*	7,49 ± 0,28*
Ишемия + семакс	1112 ± 10*	66,87 ± 1,08*	7,10 ± 0,15*

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по отношению к контролю.

и памяти. Курсовое назначение нейропептидов приводило к увеличению количества c-fos-позитивных нейронов в зоне CA₁ гиппокампа по отношению к контрольной группе (рис. 7). Важно отметить, что увеличение экспрессии гена c-fos под влиянием Цереброкурина протекало на фоне восстановления когнитивных функций алкоголизованных животных (рис. 8).

В условиях моделирования ишемического повреждения головного мозга нейропептиды также продемонстрировали способность на 21-е сутки (восстановительный период) нормализовать экспрессию гена c-fos. Данный эффект нейропептидов является одним из главных звеньев их церебропротективного действия — за счет усиления экспрессии гена c-fos изменялся морфологический тип гибели нейронов, переключаясь на более «мягкий» апоптотический путь. Апоптотическая гибель нейронов является оптимальным, упорядоченным процессом прекращения жизнедеятельности деструктивно измененных нейронов, при котором стабилизируются клеточные мембраны, содержание клеток утилизируется путем образования апоптотических телец и их фагоцитоза без развития воспалительной реакции. Из рис. 9 видно, что наиболее активным оказался Цереброкурин, увеличивая количества c-fos белка в нейронах на 50 % по отношению к контролю. Следует отметить, что при ишемическом повреждении головного мозга введение нейропептидов приводило не к гиперэкспрессии генов, а их нормализации [4].

Вопрос о значении апоптоза в условиях ишемии головного мозга остается спор-

ным, однако все больше фактов свидетельствует в его пользу [11, 22]. В отличие от апоптоза некроз клетки — более грубое разрушение, которое сопровождается вакуолизацией, резким набуханием клетки, лизисом мембран, выходом клеточного содержимого в межклеточное пространство. Это сопровождается усилением синтеза воспалительных интерлейкинов и цитокинов, развитием воспаления. В зависимости от степени экспрессии гена c-fos регулирует процессы апоптоза/некроза. Нормализация экспрессии данного гена под влиянием нейропептидов при ишемическом повреждении нейронов на 21-е сутки приводила к увеличению количества глиальных клеток и нейронов в коре головного мозга, а также к повышению их морфофункциональной активности (увеличение содержания РНК) (табл. 1, рис. 10).

Таким образом, полученные нами результаты позволяют говорить о существенных различиях в силе фармакологического эффекта нейропептидов. Все изученные препараты — семакс, кортексин, Цереброкурин показали достоверно отличающиеся результаты, которые, очевидно, объясняются различным происхождением и поэтому разным механизмом действия. Наиболее перспективной видится дальнейшая разработка препарата Цереброкурин, показавшего самую высокую активность в фармакокоррекции нейродегенеративных заболеваний, которая является актуальной проблемой медицины и фармакологии.

Список литературы находится в редакции □