

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ Rho/ROCK ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

Юрий Александрович Челышев, Максум Фасахович Исмаилов, Яна Олеговна Мухамедишина,
Татьяна Вячеславовна Повышева, Наталья Валентиновна Бойчук

Казанский государственный медицинский университет, 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49,
e-mail: chelyshev-kzn@yandex.ru

Малые ГТФазы Rho действуют через активируемую ими эффекторную молекулу Rho-ассоциированную киназу (ROCK) и контролируют миграцию, пролиферацию и гибель нейральных клеток и реактивный астроглиоз. Сигнальный путь Rho/ROCK опосредует влияние эндогенных ингибиторов роста аксонов из миелина, олигодендроцитов и глиального рубца и активируется при травме спинного мозга, что приводит к усилению воспалительного ответа, развитию нейропатической боли, демиелинизации, гибели клеток, ингибированию роста аксонов и нарушению функции. При травме спинного мозга в условиях фармакологического ингибирования Rho/ROCK показано усиление роста и ветвления аксонов, увеличение пластичности нейральных структур и межклеточных коммуникаций, нейропротекторное действие, усиление ремиелинизации и улучшение функции. Кроме селективных ингибиторов RhoA (цетрин) и ROCK (фасудил, Y-27632 и Y-39983), способность ингибировать Rho/ROCK показана для нестероидных противовоспалительных средств, таких как ибупрофен и индометацин, а также для статинов.

Ключевые слова: малая ГТФаза Rho, Rho-ассоциированная киназа, травма спинного мозга, рост аксона, пластичность, ремиелинизация, статины.

Rho/ROCK SIGNALING PATHWAY AFTER
SPINAL CORD INJURY

Yuri A. Chelyshev, Maksim F. Ismagilov, Yana O. Mukhamedshina,
Tatyana V. Povyshcheva, Natalya V. Boychuk

Kazan State Medical University,
Butlerov str., 49, Kazan, 420012, e-mail: chelyshev-kzn@yandex.ru

Small Rho GTPases act through the Rho-associated kinase (ROCK) activated by them, and control the migration, proliferation and death of neural cells and reactive astrogliosis. The Rho/ROCK signal pathway mediates the effect of endogenous axons growth inhibitors from myelin, oligodendrocytes and glial scar and it is activated in spinal cord trauma, which leads to an increased inflammatory response, neuropathic pain, demyelination, cell death, inhibition of axon growth, and impaired function. After spinal cord injury under conditions of pharmacological inhibition of Rho/ROCK was shown increased level of growth and branching, increased plasticity of neuronal structures and intercellular communications, neuroprotective effect, increased remyelination and improved function. In addition to selective inhibitors of RhoA (ADP-ribosyltransferase C3) and ROCK (Fasudil, Y-27632 and Y-39983), the ability to inhibit Rho/ROCK was indicated for non-steroidal anti-inflammatory drugs such as ibuprofen and indomethacin, as well as for statins.

Key words: Small Rho GTPase, Rho-associated kinase, spinal cord injury, axon growth, plasticity, remyelination.

В отличие от регенерации в периферической нервной системе, восстановление нервных связей, которое предполагает выживание нейральных клеток, удлинение аксонов, реконструкцию синаптических контактов и ремиелинизацию, в ЦНС протекает очень вяло. Недостаточность регенерации в ЦНС

связывают с действием уже идентифицированных эндогенных молекул-ингибиторов. Эти молекулы одной группы экспрессируются миелинообразующими клетками и присутствуют во фрагментах распадающегося миелина. Молекулы-ингибиторы другой группы продуцируются клетками глиального рубца, преимущественно реактивными астроцитами. Действие молекул-ингибиторов обеих групп на нейроны осуществляется через специфические рецепторные входы и конвергирует на внутриклеточном сигнальном пути, а именно на системе Rho/ROCK. Многочисленными исследованиями на разных экспериментальных моделях нейродегенерации показано, что нейтрализация различными способами молекул-ингибиторов или блокирование их рецепторов стимулирует регенерацию и восстановление функции. Другая возможность для повышения эффективности регенерации при повреждении ЦНС связана с ингибированием в нейронах внутриклеточной сигнальной системы Rho/ROCK, что и предполагается рассмотреть в данной статье применительно к травме спинного мозга.

Недостаточность регенерации в ЦНС усугубляется развитием воспаления, окислительного стресса, эксайтотоксичности и болевого синдрома. В развитии этих патологических реакций также участвует система Rho/ROCK, что подтверждает актуальность её изучения как молекулярной мишени потенциальных стимуляторов нейрогенерации.

Характеристика системы Rho/ROCK. Молекулы семейства Rho (Ras homology) принадлежат к одному из пяти семейств (Ras, Rho, Ran, Rab и Arf ГТФазы), объединенных в суперсемейство малых ГТФаз Ras (Ras sarcoma онкобелки, не менее 36 членов). Ras белки реагируют на действие многочисленных внеклеточных сигналов. Активированные Ras белки действуют через множество различающихся по каталитической активности эффекторных молекул. Эти молекулы регулируют внутриклеточные сигнальные каскады, которые влияют на экспрессию генов, контролирующих пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток [45].

Из семейства Rho, насчитывающего не менее 20 членов, наиболее изучены RhoA, Rac1 и Cdc42. Эти молекулы контролируют различные аспекты цитогенеза и функционирования нейральных клеток, включая их миграцию, пролиферацию, гибель, рост аксонов и

др., что объясняет повышенный и все возрастающий интерес неврологов и нейробиологов к этой системе. В нейронах доминирует форма RhoA.

ГТФазы Rho действуют через активируемую ими эффекторную молекулу Rho-ассоциированную киназу (ROCK), которая существует в двух изоформах ROCK1 и ROCK2. ROCK2 преимущественно экспрессируется в ЦНС, включая пирамидные нейроны гиппокампа, коры и клетки Пуркинье мозжечка. ROCK1 присутствует преимущественно в ненервных структурах, таких как скелетная мышца, легкие, почки и др. Эти изоформы гомологичны на 64%, а гомология в их киназном домене достигает 90%. ROCK1 и ROCK2 по-разному регулируют отдельные молекулярные пути влияния RhoA. Их координированная активность определяет полярность мигрирующих клеток и формирование структуры синапса. В частности, ROCK1 образует стабильные пучки актомиозиновых нитей, которые определяют полярность шипиков дендритов. Напротив, ROCK2 регулирует контрактильную активность на лидирующем конце мигрирующих клеток и в шипиках, а также опосредованную кофилином перестройку актинового цитоскелета, что лежит в основе формирования адгезионных контактов и постсинаптической плотности шипиков дендритов [33].

Поведение астроцитов, состояние их цитоскелета, подвижность, пролиферативная активность и экспрессия многих функционально важных молекул контролирует сигнальный путь Rho/ROCK [28, 39, 24, 34].

Форма астроцитов, их подвижность и деление определяются состоянием актинового цитоскелета, который регулируется сигнальными путями Notch и Rho ГТФаз [39, 24]. При этом показано угнетение работы переносчиков глутамата EAAT1 и 2 [34, 39]. Реорганизация цитоскелета в астроцитах, сопровождающаяся увеличением экспрессии маркера астроцитов глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) и Rho ГТФаз, приводит к ретракции концевых ножек отростков астроцитов, связывающих их с нейронами и капиллярами [4].

Сигнальный путь Rho/ROCK играет существенную роль в молекулярном механизме развития реактивного астроглиоза. Многочисленными исследованиями показано его активирование при повреждении мозга. Так, при ишемическом инсульте в нейронах и астроцитах увеличивается экспрессия Rho и ROCK [47]. Реактивный астроглиоз и формирование глиального рубца сопровождаются активацией этого сигнального пути в астроцитах, что приводит к перестройке актинового цитоскелета и изменению формы астроцитов. При ингибировании ROCK форма астроцитов восстанавливается [31].

Богатые актином выросты дендритов, или дендритные шипики, образующие синаптические контакты с аксонами, играют важную роль в межнейронных коммуникациях. Нарушения их пластичной

структуры, формы и размеров выявлено при деменциях, сопровождающих дегенеративные заболевания ЦНС, при запаздывании умственного развития, аутизме, шизофрении, синдромах гиперактивного ребёнка и ломкой X-хромосомы. Поскольку ROCK является мощным регулятором состояния актинового цитоскелета, возникла идея модифицировать структуру дендритных шипиков через данную систему. Фармакологическое ингибирование ROCK значительно изменяло морфологию дендритных шипиков в нейронах гиппокампа, что может рассматриваться как способ терапии при неврологических расстройствах, характеризующихся уменьшением количества шипиков или аберрантной пластичностью их структуры [41].

У мышей с экспериментальным энцефаломиелитом ингибирование ROCK фасудилом оказывает поддерживающее влияние на структуру синапса и защищает его от повреждения. По мнению исследователей, данный эффект может быть опосредован увеличением экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) и глиального нейротрофического фактора (GDNF), а также противовоспалительным действием [49].

На модели спинальной мышечной атрофии мышей установлено, что прогрессивной гибели мотонейронов предшествует дезинтеграция глутаматергических афферентных синапсов [42]. Аналогичная последовательность событий наблюдается в нейрогенезе. У мутантных мышей деструкция синапсов сопровождается активацией микроглии, увеличением содержания оксида азота и экспрессии легкой цепи фосфорилированного миозина. Этим патологическим сдвигам сопутствует активация системы Rho/ROCK [42].

Введение в культуру нейронов коры мозга мыши сыворотки крови пациентов с множественным склерозом вызывало укорочение аксонов и снижение выживания клеток [6]. При этом ингибирование ROCK при помощи фасудила поддерживало структуру синапсов и экспрессию пресинаптического белка синаптофизина.

Недавние исследования показали, что значительная часть синапсов в зрелом мозге является достаточно стабильной в течение длительного времени. Стабильность синаптических контактов связывают с необходимостью поддерживать долговременную память. Из многочисленных молекул ингибиторов роста и регенерации аксонов в ЦНС поддержание устойчивости межнейронных связей контролируют хондроитинсульфат протеогликаны и NogoA [30]. При этом ингибиторы регенерации и молекулярные стабилизаторы синапсов в ЦНС оказывают регулирующее влияние на активность синапсов путём блокирования в них синтеза белка, опосредуемого сигнальным каскадом mTOR, который в свою очередь, контролируется системой RhoA/ROCK.

Rho ГТФаза Cdc42 регулирует образование моносинаптических связей между чувствительными и двигательными нейронами, проявляя свое действие

в чувствительных, но не в двигательных нейронах. В пресинаптическом чувствительном нейроне действие Cdc42 реализуется через влияние на специальные белки нейролигины, которые обеспечивают синаптогенез [19].

Фрагменты распадающегося миелина ингибируют дифференцировку олигодендроцитов по RhoA-зависимому механизму [3], что препятствует ремиелинизации поврежденных аксонов. Ингибирование Rho/ROCK стимулирует дифференцировку резидентных предшественников олигодендроцитов, синтез белков миелина и формирование миелиновой оболочки [3, 35].

Молекулярной мишенью ROCK служит онко-супрессор фосфатаза и гомолог тензина (PTEN), впервые идентифицированный в качестве негативного регулятора сигнального каскада фосфоинозитид 3-киназы, контролирующего рост, метаболизм и выживание клеток. PTEN является фосфатазой липидов и белков, т.е. обладает двойной субстратной специфичностью, и служит главным негативным регулятором фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3K) и сигнального пути PI3K-Akt-mTor, переводя фосфатидилинозитол 3,4,5-трифосфат в фосфатидилинозитол (4,5)-бифосфат. Угнетение функции PTEN приводит к активации Akt (протеинкиназы B) и её эффекторов, что коррелирует с онкогенезом и многочисленными мозговыми расстройствами, такими как макроцефалия, судороги, болезнь Лермитте–Дуклоса (диспластическая ганглиоцитома мозжечка) и аутизм. Подавление экспрессии PTEN в нейронах делает их гиперактивными за счёт усиления образования возбуждающих синапсов [46]. На модели хронической травмы периферического нерва сверхэкспрессия гена PTEN в результате его доставки при помощи аденовирусного вектора (Ad-PTEN) в спинной мозг значительно ослабляет активацию микроглии и астроцитов и предотвращает нейропатическую боль [18].

Сигнальный путь Rho/ROCK опосредует влияние эндогенных ингибиторов роста аксонов. Молекулярные барьеры для регенерации аксонов при травме спинного мозга локализованы во фрагментах миелина и в глиальном рубце. К этим молекулам-ингибиторам относят NogoA, миелин-ассоциированный гликопротеин (MAG, myelin-associated glycoprotein), гликопротеин миелина олигодендроцитов (OMgp, oligodendrocyte-myelin glycoprotein), эфрины, репульсивную направляющую молекулу A (RGMA, repulsive guidance molecule A) и хондроитинсульфат протеогликанов (CSPGs, chondroitin sulfate proteoglycans) [22]. Данные лиганды действуют на многочисленные родственные рецепторы, интегрированные в аксолему. Взаимодействие лигандов с рецепторами конвергирует на сигнальном пути Rho/ROCK. RhoA является ключевой молекулой, которая инициирует коллапс конуса роста и последующее сдерживание процессов удлинения и регенерации поврежденного аксона.

Другим источником эндогенных молекул-ингибиторов роста аксонов, в том числе действующих через Rho/ROCK сигнальный путь, является глиальный рубец. К ним относят хондроитинсульфат протеогликанов. Эти молекулы достаточно хорошо изучены и рассматриваются как потенциальные мишени терапевтических воздействий [1]. Следует, однако, отметить, что структуры глиального рубца экспрессируют не только ингибиторы роста аксонов, но и молекулы, обладающие противоположным действием, т.е. стимулирующие рост и регенерацию аксонов. Так, в опубликованной в 2016 г. в журнале Nature работе Anderson et al. [2] приведены данные, противоречащие существующей догме об угнетении глиальным рубцом роста аксонов. В данной работе показано, что сдерживание формирования глиального рубца путём ослабления процесса образования реактивных астроцитов или удаление хронического рубца не приводит при перерезке спинного мозга мыши к спонтанному восстановлению роста аксонов кортикоспинального тракта, а также сенсорных и серотонинергических аксонов. Более того, ингибирование формирования глиального рубца значительно угнетает рост аксонов, несмотря на подведение в область повреждения стимуляторов регенерации нейротрофина-3 (NT3) и мозгового нейротрофического фактора (BDNF). В астроцитах глиального рубца показано усиление продукции молекул, стимулирующих рост аксонов, а именно хондроитинсульфат протеогликанов CSPG4 и CSPG5, а также ламинина [2].

Сигнальный путь Rho/ROCK при травме спинного мозга. При травме спинного мозга происходит активирование в области повреждения сигнального пути RhoA/ROCK [12, 13], что приводит к усилению воспалительного ответа, развитию нейропатической боли, демиелинизации, гибели клеток, ингибированию роста аксонов и нарушению функции [22].

Различные формы Rho ГТФаз реагируют на травматическое повреждение спинного мозга с различной степенью выраженности. При этом динамика содержания каждой из них при переходе от острой к хронической стадии достаточно специфична. Нами методом иммуноблотинга на модели дозированной контузионной травмы спинного мозга крысы на уровне Th8 показано увеличение в области повреждения экспрессии Rho ГТФаз Cdc42, Rac1-2-3 и особенно RhoA. Эти сдвиги развивались в остром периоде и сохранялись на отдаленных сроках. На 30-е сутки после нанесения травмы значительное увеличение содержания выявлено для phospho-Rac1-Cdc42 (более чем в 4,4 раза), далее по убыванию RhoA (~3,7 раза), Cdc42 (~2,4 раза), Rac1-2-3 (~1,8 раза), RhoB (~1,4 раза). Особенности реакции различных форм малых ГТФаз в условиях патологии и, в частности, при травме спинного мозга, по-видимому, зависят от специфической функции каждой конкретной формы, выполняемой в интактной ткани. Для выяснения этих функций применительно к структурам спинного мозга необходимы дальнейшие исследования.

При травме спинного мозга Rho/ROCK сигнальный путь специфически активируется молекулами поврежденной ткани, прежде всего из олигодендроцитов и миелина (MAG, NogoA, OMgp), а также из внеклеточного матрикса (CSPG). Ингибирование этих молекул оказывает нейропротекторное действие, усиливает регенерацию аксонов и улучшает результаты клеточной терапии, поддерживая активность трансплантированных клеток [25].

Фармакологические ингибиторы сигнального пути Rho/ROCK и их эффекты при травме спинного мозга. В условиях ингибирования Rho или ROCK многочисленными экспериментами при травме спинного мозга показано усиление роста и ветвления аксонов, увеличение пластичности нейральных структур и межклеточных коммуникаций, нейропротекторное действие, усиление ремиелинизации за счёт поддержания дифференцировки предшественников олигодендроцитов и в целом улучшение восстановления функции [22, 50]. Эти данные были получены главным образом благодаря разработке селективных ингибиторов молекул, действующих в составе сигнального пути Rho/ROCK. Анализ всех известных экспериментальных работ с оценкой восстановления двигательной функции в открытом поле при травме спинного мозга показал её восстановление в условиях ингибирования Rho/ROCK в среднем на 15% [44].

Ингибирование малых ГТФаз. Цетрин (от C3 – це три) – ингибитор RhoA, C3 экзофермент *Clostridium botulinum*, прототип бактериальных АДФ-рибозилтрансфераз. C3 селективно модифицирует RhoA путём ковалентного присоединения последовательности АДФ-рибозы, что приводит к нарушению функций RhoA в клетке.

Фрагмент C3 трансферазы, проникающий в клетку белок слияния BA-210, доставляемый в область повреждения спинного мозга грызунов, дозозависимым способом инактивирует Rho. Это приводит к увеличению сохранности ткани и существенному улучшению двигательной функции [27].

При помощи технологии малых интерферирующих РНК (siRNA) и блокирования трансляции RhoA показано улучшение структурно-функциональных показателей при экспериментальной травме спинного мозга [16]. Доставка siRhoA на полиплексе значительно снижала содержание RhoA мРНК и самого белка, что наблюдалось в течение первых 4-х недель после нанесения травмы. При этом уменьшались выраженность апоптоза, объем патологических полостей и астроглиоз и усиливалась регенерация аксонов в области повреждения. Выраженное нейропротекторное действие было выявлено на модели травмы спинного мозга в условиях доставки siRhoA при помощи многослойных карбоновых нанотрубок [9].

При острой травме спинного мозга положительное действие цетрина подтверждено в ходе завершённых 1 и 2-й стадий клинических испытаний [29].

На модели перерезки зрительного нерва крысы и реконструкции его фрагментом аутологичного периферического нерва показано стимулирующее влияние внутриглазного введения BA-210 на регенерацию аксонов и выраженную перестройку морфологии дендритов ганглиозных клеток сетчатки [11].

Для нестероидных противовоспалительных средств, таких как ибупрофен и индометацин, была показана способность ингибировать Rho независимо от их ингибирующего действия на циклооксигеназы. В культуре нейронов ибупрофен снижает уровень RhoA и усиливает формирование отростков [37]. Было установлено, что ибупрофен усиливает спраутинг аксонов и улучшает неврологический статус [22]. Ожидается, что стимулирование ибупрофеном рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом γ (PPAR γ) и одновременное ингибирование циклооксигеназ-1 и 2 (COX-1/2) и ядерного фактора каппа В (NF- κ B) за счёт противовоспалительного действия будет сдерживать последствия вторичного повреждения при травме спинного мозга. Данное действие будет позитивно сочетаться с эффектами ингибирующего влияния нестероидного противовоспалительного средства на систему Rho. Предполагается, что это действие также может быть опосредовано участием PPAR γ . При острой травме спинного мозга исследование эффективности Rho-ингибитора ибупрофена находится в первой фазе клинических испытаний.

Ингибирование ROCK. Фасудил является селективным ингибитором ROCK. В культуре астроцитов фасудил сдерживает морфологические и молекулярные проявления астроглиоза, увеличение экспрессии переносчиков глутамата и BDNF, снижение экспрессии белка водного канала аквапорина 4 (AQP4), что связывают с нарушением функции гематоэнцефалического барьера [23].

Фасудил сдерживает эффект угнетения роста аксонов со стороны хондроитинсульфат протеогликанов, выделяемых реактивными астроцитами, стимулирует продукцию астроцитами BDNF, колонизирующего фактора гранулоцитов (G-CSF) и экспрессию в них переносчика глутамата EAAT [34, 10]. G-CSF, в свою очередь, поддерживает нейрогенез, дифференцировку нейронов и последующее восстановление функции [10].

На модели гипоксии *in vitro* фасудил снижает экспрессию GFAP и проявления астроглиоза вследствие ингибирования NF- κ B [21]. На модели аутоиммунного энцефаломиелита фасудил сдерживает дегенерацию синапсов и стимулирует синаптогенез, что коррелирует с увеличением экспрессии нейротрофических факторов BDNF и GDNF, снижением экспрессии провоспалительных цитокинов IL-17, IL-1 β , IL-6 и TNF- α и провоспалительной активности микроглии [49].

При исследовании эффектов фасудила на структурно-функциональные характеристики ткани при

травме спинного мозга большое внимание было уделено сочетанному действию данного селективного ингибитора ROCK и других терапевтических подходов.

Терапевтическое действие ингибиторов ROCK при неврологических расстройствах может быть усилено при одновременном применении ингибиторов циклооксигеназы-2 (COX-2). Сочетанное введение фасудила и ингибитора COX-2 цеlexоксифа при травме спинного мозга у крысы, оказывая синергическое действие, значительно снижает экспрессию COX-2 и ROCK2 в прилежащей к области повреждения ткани, улучшает её структуру и способствует восстановлению двигательной функции [17].

Введение фасудила в течение 2-х недель в сочетании с трансплантацией стромальных клеток костного мозга значительно увеличивает количество регенерирующих аксонов кортикоспинального тракта, прорастающих через область повреждения спинного мозга крысы, но не ускоряет восстановление двигательной функции [7]. Однако другой группе японских исследователей при сочетании интратекального введения фасудила в течение 4-х недель с однократной инъекцией стромальных клеток костного мозга в область травматического повреждения удалось показать улучшение двигательной, но не чувствительной функции, увеличение количества регенерирующих аксонов и серотонинергических волокон в ростральной от эпицентра травмы области, а также значительное уменьшение патологических полостей [14]. Терапевтическая эффективность сочетанного применения фасудила и интраспинальной трансплантации нейральных стволовых клеток показана также на модели болезни Паркинсона у мышей [25]. Увеличение выживания дофаминергических нейронов в чёрном веществе сочеталось с ингибированием патологических реакций астроцитов и микроглии, с более выраженным проявлением противовоспалительного и антиоксидантного действия, увеличением содержания нейротрофического фактора NT-3 и нормализацией экспрессии глутаматных рецепторов NMDA и AMPA. Эти эффекты сопровождались параллельным увеличением количества выживающих трансплантируемых стволовых нейральных клеток, на основании чего авторы высказали предположение о том, что позитивный эффект сочетанной терапии может быть связан с увеличением выживания трансплантируемых клеток в условиях ингибирования сигнального пути Rho/ROCK. Позитивное синергическое действие фасудила и трансплантации мезенхимных стволовых клеток из костного мозга показано при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите у мышей [49]. При этом фасудил ингибирует влияние провоспалительных молекул TLR-4/MyD88, IFN- γ , IL-1 β и TNF- α , а также активирует продукцию нейротрофических факторов GDNF и BDNF, которые существенно значимы для экспрессии молекулы миелина галактоцереброзида (GalC). Следует отметить, что во всех проведенных экспериментах с сочетанием введения фасудила и

клеточной терапии остается неясным, влияет ли ингибитор ROCK на выживание, фенотипические характеристики и синтетическую активность самих трансплантируемых клеток.

Применительно к неврологической патологии позитивные эффекты фасудила зарегистрированы не только при его применении в комплексе с другими фармакологическими агентами и с клеточной терапией. На модели острого ишемического инсульта у крысы показано, что принудительная двигательная терапия на фоне введения фасудила оказывается более эффективной [25].

Соединение Y-27632 ингибирует обе молекулярные формы ROCK, ROCK1 и ROCK2, путём конкурентного взаимодействия с АТФ-связывающим сайтом. Соединение Y-39983. Данный ингибитор приблизительно в 30 раз эффективнее, чем Y-27632 [43]. На модели глаукомы соединение Y-39983 снижает внутриглазное давление [43] и поддерживает регенерацию аксонов после повреждения зрительного нерва [38].

На модели односторонней дорсальной гемисекции спинного мозга крысы доставка атаногена BAG1, усиливающего противоапоптозный эффект молекулы Bcl-2, при помощи аденоассоциированного вирусного вектора и ROCK2-shRNA приводит к увеличению количества выживающих в красном ядре нейронов, аксоны которых проходят в составе красноядерно-спинномозгового тракта к двигательным ядрам спинного мозга, и усилению спраутинга аксонов в ростральной от места повреждения области [5].

Статины. Ингибирование образования холестерина при помощи статинов (ингибиторов 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы) нашло широкое применение в клинической практике для нормализации обмена липидов. Не связанные с влиянием на липидный обмен эффекты статинов, что обозначают как плеiotропное действие, имеют значение для сдерживания патологических сдвигов. Наиболее важными из них являются противовоспалительное, цитостатическое, антиоксидантное, иммуномодуляторное, нейропротекторное, противодиабетическое, антитромботическое действие, а также предотвращение дисфункции эндотелия и ремоделирования сосудов.

На большой выборке пациентов (около 3 тыс.) установлено, что гиперлипидемия отрицательно влияет на неврологические проявления при травме поясничного отдела позвоночника. При этом терапия статинами оказывает положительное действие, но только в условиях применения более низких доз (суточная доза менее 90 мг, по сравнению с более высокой дозой при тяжелой гиперлипидемии) [8]. На модели компрессионной травмы спинного мозга крысы показано, что розувастатин оказывает противовоспалительное и противоапоптозное действие и улучшает функциональные показатели [20]. При контузионной травме спинного мозга крысы аторвастатин активирует аутофагию, сдерживает апоптоз и способствует

восстановлению функции [15]. Выраженный нейропротекторный эффект аторвастатина был установлен на модели ишемии спинного мозга кролика [32], а на модели ишемии спинного мозга крысы показано антиоксидантное и цитопротекторное действие симвастатина [40].

В качестве одного из молекулярных механизмов плейотропного действия статинов рассматривается возможность их влияния на систему Rho/ROCK. Показано стимулирующее действие симвастатина на нейрогенез в зубчатой извилине гиппокампа у мышей, которое опосредовано влиянием на сигнальный путь Wnt/ β -катенин [36]. В последующем на той же экспериментальной модели было установлено, что симвастатин не только ингибирует пролиферацию стволовых нейральных клеток, но также стимулирует их дифференцировку, что опосредуется через ROCK [50].

Действие статинов на систему Rho/ROCK, имеющее универсальное значение, сегодня активно изучается в аспекте молекулярных механизмов патогенеза ряда неврологических заболеваний и выявления новых молекулярных мишеней для их лечения. В связи с этим особенно остро встает вопрос о клинических испытаниях целевого ингибирования ГТФаз при помощи статинов. Некоторые из препаратов этого ряда широко используют для лечения других заболеваний, что позволяет рассчитывать на скорейшее их применение при нейротравме.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00252.

ЛИТЕРАТУРА

- Челышев Ю.А., Шаймарданова Г.Ф., Мухамедшина Я.О., Нигметзянова М.В. Глиальные барьеры при травме спинного мозга как мишень генно-клеточной терапии // *Неврологический вестник*. 2013. Т. 45, №1. С. 87–93.
- Anderson M.A., Burda J.E., Ren Y. et al. Astrocyte scar formation aids CNS axon regeneration // *Nature*. 2016. Vol. 532. P. 195–200.
- Baer A.S., Syed Y.A., Kang S.U. et al. Myelin-mediated inhibition of oligodendrocyte precursor differentiation can be overcome by pharmacological modulation of Fyn-RhoA and protein kinase C signaling // *Brain*. 2009. Vol. 132. P. 465–481.
- Cahoy J.D., Emery B., Kaushal A. et al. A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: A new resource for understanding brain development and function // *J. Neurosci.* 2008. № 28. P. 264–278.
- Challagundla M., Koch J.C., Ribas V.T. et al. AAV-mediated expression of BAG1 and ROCK2-shRNA promote neuronal survival and axonal sprouting in a rat model of rubrospinal tract injury // *J. Neurochem.* 2015. Vol. 134, № 2. P. 261–275.
- Chen C., Yu J.Z., Zhang Q. et al. Role of Rho Kinase and Fasudil on Synaptic Plasticity in Multiple Sclerosis // *Neuromolecular Med.* 2015. Vol. 17, № 4. P. 454–465.
- Chiba Y., Kuroda S., Shichinohe H., et al. Synergistic effects of bone marrow stromal cells and a Rho kinase (ROCK) inhibitor, fasudil on axon regeneration in rat spinal cord injury // *Neuropathology*. 2010. Vol. 30, № 3. P. 241–250.
- Chung W.F., Liu S.W., Chang P.Y. et al. Hyperlipidemia and statins affect neurological outcome in lumbar spine injury // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2015. Vol. 12, № 1. P. 402–413.
- Ding S., Bao Y., Lin Y. et al. Neuroprotective effect of functionalized multi-walled carbon nanotubes on spinal cord injury in rats // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015. Vol. 8, № 12. P. 15769–15777.
- Ding J., Yu J.Z., Li Q.Y. et al. Rho kinase inhibitor Fasudil induces neuroprotection and neurogenesis partially through astrocyte-derived G-CSF // *Brain Behav. Immun.* 2009. Vol. 23. P. 1083–1088.
- Drummond E.S., Rodger J., Penrose M. et al. Effects of intravitreal injection of a Rho-GTPase inhibitor (BA-210), or CNTF combined with an analogue of cAMP, on the dendritic morphology of regenerating retinal ganglion cells // *Restor. Neurol. Neurosci.* 2014. Vol. 32. P. 391–402.
- Dubreuil C.I., Winton M.J., McKerracher L. Rho activation patterns after spinal cord injury and the role of activated Rho in apoptosis in the central nervous system // *J. Cell Biol.* 2003. Vol. 162. P. 233–243.
- Erschbamer M.K., Hofstetter C.P., Olson L. RhoA, RhoB, RhoC, Rac1, Cdc42, and Tc10 mRNA levels in spinal cord, sensory ganglia, and corticospinal tract neurons and long-lasting specific changes following spinal cord injury // *J. Comp. Neurol.* 2005. Vol. 484. P. 224–233.
- Furuya T., Hashimoto M., Koda M., et al. Treatment of rat spinal cord injury with a Rho-kinase inhibitor and bone marrow stromal cell transplantation // *Brain Res.* 2009. № 1295. P. 192–202.
- Gao S., Zhang Z.M., Shen Z.L. et al. Atorvastatin activates autophagy and promotes neurological function recovery after spinal cord injury // *Neural. Regen. Res.* 2016. Vol. 11, № 6. P. 977–982.
- Gwak S.J., Macks C., Jeong D.U. et al. RhoA knockdown by cationic amphiphilic copolymer/siRhoA polyplexes enhances axonal regeneration in rat spinal cord injury model // *Biomaterials*. 2017. № 121. P. 155–166.
- Hou X.L., Chen Y., Yin H., Duan W.G. Combination of fasudil and celecoxib promotes the recovery of injured spinal cord in rats better than celecoxib or fasudil alone // *Neural Regen. Res.* 2015. Vol. 10, № 11. P. 1836–1840.
- Huang S.Y., Sung C.S., Chen W.F. et al. Involvement of phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10 in rodent model of neuropathic pain // *J. Neuroinflammation*. 2015. Vol. 12. P. 59.
- Imai F., Ladle D.R., Leslie J.R. et al. Synapse Formation in Monosynaptic Sensory-Motor Connections Is Regulated by Presynaptic Rho GTPase Cdc42 // *J. Neurosci.* 2016. Vol. 36, № 21. P. 5724–5735.
- Kahveci R., Gökçe E.C., Gürer B. et al. Neuroprotective effects of rosuvastatin against traumatic spinal cord injury in rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2014. № 741. P. 45–54.
- Keshewani V., Tarang S., Barnes R., Agrawal S.K. Fasudil reduces GFAP expression after hypoxic injury // *Neurosci. Lett.* 2014. № 576. P. 45–50.
- Kopp M.A., Liebscher T., Watzlawick R. et al. SCISSOR-Spinal Cord Injury Study on Small molecule-derived Rho inhibition: a clinical study protocol // *BMJ Open*. 2016. Vol. 6, № 7.
- Lau C.L., O'Shea R.D., Broberg B.V. et al. The Rho kinase inhibitor Fasudil up-regulates astrocytic glutamate transport subsequent to actin re-modelling in cultured murine astrocytes // *Br. J. Pharmacol.* 2011. № 163. P. 533–545.
- Le Comte M.D., Shimada I.S., Sherwin C., Spees J.L. Notch1-STAT3-ETBR signaling axis controls reactive astrocyte proliferation after brain injury // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2015. № 112. P. 8726–8731.
- Li Y.H., Yu J.W., Xi J.Y. et al. Fasudil enhances therapeutic efficacy of neural stem cells in the mouse model of MPTP-induced Parkinson's disease // *Mol. Neurobiol.* 2016. [Epub ahead of print].
- Liu Y.H., Zhao Y., Huang F.Z. et al. Combination of early constraint-induced movement therapy and fasudil enhances motor recovery after ischemic stroke in rats // *Int. J. Neurosci.* 2016. Vol. 126. № 2. P. 168–173.
- Lord-Fontaine S., Yang F., Diep Q. et al. Local inhibition of Rho signaling by cell-permeable recombinant protein BA-210 prevents secondary damage and promotes functional recovery following acute spinal cord injury // *J. Neurotrauma*. 2008. № 11. P. 1309–1322.

28. Mattila P.K., Lappalainen P. Filopodia: Molecular architecture and cellular functions // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008. № 9. P. 446–454.
29. McKerracher L., Anderson K.D. Analysis of recruitment and outcomes in the phase I/IIa Cethrin clinical trial for acute spinal cord injury // *J Neurotrauma.* 2013. № 30. P. 1795–1804.
30. Mironova Y.A., Giger R.J. Where no synapses go: gatekeepers of circuit remodeling and synaptic strength // *Trends Neurosci.* 2013. № 6. P. 363–373.
31. Murk K., Blanco Suarez E.M., Cockbill L.M., et al. The antagonistic modulation of Arp2/3 activity by N-WASP, WAVE2 and PICK1 defines dynamic changes in astrocyte morphology // *J. Cell Sci.* 2013, № 126. P. 3873–3883.
32. Nazli Y., Colak N., Alpay M.F. et al. Neuroprotective effect of atorvastatin in spinal cord ischemia-reperfusion injury // *Clinics (Sao Paulo).* 2015. № 1. P. 52–60.
33. Newell-Litwa K.A., Badoual M., Asmussen H., et al. ROCK1 and 2 differentially regulate actomyosin organization to drive cell and synaptic polarity // *J. Cell. Biol.* 2015. Vol. 210. № 2. P. 225–242.
34. O'Shea R.D., Lau C.L., Zulaziz N.B. et al. Transcriptomic analysis and 3D bioengineering of astrocytes indicate ROCK inhibition produces cytotoxic astroglia // *Front. Neurosci.* 2015. № 9. P. 50.
35. Pedraza C.E., Taylor C., Pereira A. et al. Induction of oligodendrocyte differentiation and in vitro myelination by inhibition of rho-associated kinase // *ASN Neuro.* 2014. Vol. 6. № 4.
36. Robin N.C., Agoston Z., Biechele T.L. et al. Simvastatin promotes adult hippocampal neurogenesis by enhancing Wnt/ β -catenin signaling // *Stem Cell Reports.* 2013. Vol. 2. № 1. P. 9–17.
37. Roloff F., Scheiblich H., Dewitz C. et al. Enhanced neurite outgrowth of human model (NT2) neurons by small-molecule inhibitors of Rho/ROCK signaling // *PLoS One.* 2015. Vol. 10. № 2.
38. Sagawa H., Terasaki H., Nakamura M. et al. A novel ROCK inhibitor, Y-39983, promotes regeneration of crushed axons of retinal ganglion cells into the optic nerve of adult cats // *Exp. Neurol.* 2007. № 1. P. 230–240.
39. Sheean R.K., Lau C.L., Shin Y.S. et al. Links between L-glutamate transporters, Na⁺/K⁺-ATPase and cytoskeleton in astrocytes: Evidence following inhibition with rottlerin // *Neuroscience.* 2013. № 254. P. 335–346.
40. Sohn H.M., Hwang J.Y., Ryu J.H. et al. Simvastatin protects ischemic spinal cord injury from cell death and cytotoxicity through decreasing oxidative stress: in vitro primary cultured rat spinal cord model under oxygen and glucose deprivation-reoxygenation conditions // *J. Orthop. Surg. Res.* 2017. Vol. 12. № 1. P. 36.
41. Swanger S.A., Mattheyses A.L., Gentry E.G., Herskowitz J.H. ROCK1 and ROCK2 inhibition alters dendritic spine morphology in hippocampal neurons // *Cell. Logist.* 2016. Vol. 5. № 4.
42. Tarabal O., Caraballo-Miralles V., Cardona-Rossinyol A. et al. Mechanisms involved in spinal cord central synapse loss in a mouse model of spinal muscular atrophy // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2014. Vol. 73. № 6. P. 519–535.
43. Tokushige H., Inatani M., Nemoto S. et al. Effects of topical administration of Y-39983, a selective rho-associated protein kinase inhibitor, on ocular tissues in rabbits and monkeys // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007. Vol. 48. № 7. P. 3216–3222.
44. Watzlawick R., Sena E.S., Dirnag U. et al. Effect and reporting bias of RhoA/ROCK-blockade intervention on locomotor recovery after spinal cord injury: a systematic review and meta-analysis // *JAMA Neurol.* 2014. Vol. 71. № 1. P. 91–99.
45. Wennerberg K., Rossman K.L., Der C.J. The Ras superfamily at a glance // *J. Cell. Sci.* 2005. Vol. 1. № 118. P. 843–846.
46. Williams M.R., DeSpensa T.Jr., Li M. et al. Hyperactivity of newborn Pten knock-out neurons results from increased excitatory synaptic drive // *J. Neurosci.* 2015. Vol. 35. № 3. P. 943–959.
47. Yano K., Kawasaki K., Hattori T. et al. Demonstration of elevation and localization of Rho-kinase activity in the brain of a rat model of cerebral infarction // *Eur. J. Pharmacol.* 2008. № 594. P. 77–83.
48. Yu J.W., Li Y.H., Song G.B. et al. Synergistic and superimposed effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells combined with fasudil in experimental autoimmune encephalomyelitis // *J. Mol. Neurosci.* 2016. Vol. 60. № 4. P. 486–497.
49. Yu J.Z., Chen C., Zhang Q. et al. Changes of synapses in experimental autoimmune encephalomyelitis by using Fasudil // *Wound Repair Regen.* 2016. Vol. 24. № 2. P. 317–327.
50. Zhang C., Wu J.M., Liao M. et al. The ROCK/GGTase pathway are essential to the proliferation and differentiation of neural stem cells mediated by simvastatin // *J. Mol. Neurosci.* 2016. Vol. 60. № 4. P. 474–485.

REFERENCES

1. Chelyshev Yu.A., Shaimardanova G.F., Mukhamedshina Ya.O., Nigmatzyanova M.V. *Neurologicheskii vestnik.* 2013. Vol. 45, №1. pp. 87–93. (in Russian)

Поступила 15.05.17.