

УДК 576.3+576.32/36

РОЛЬ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННОГО АЦЕТИЛИРОВАНИЯ И ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ В АПОПТОЗЕ НЕЙРОНОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

© 2023 г. В. А. Дзряян^а, *, С. В. Демьяненко^а

^аАкадемия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет, лаборатория “Молекулярная нейробиология”, Ростов-на-Дону, 344090 Россия

*e-mail: dzrean2016@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2023 г.

После доработки 29.05.2023 г.

Принята к публикации 31.05.2023 г.

Нейротравма — одна из основных причин инвалидности и смертности людей. Тем не менее механизмы, которые опосредуют выживание и смерть клеток периферической нервной системы, до сих пор до конца не изучены. Факторы транскрипции p53 и E2F1 являются главными регуляторами основных клеточных функций, включая репарацию ДНК, клеточный цикл, метаболизм и апоптоз. Сверхэкспрессия p53 и E2F1, показанная в ряде экспериментальных моделей травмы периферических нервов, позволяет предположить важную роль этих белков в патогенезе нейротравм. В настоящем обзоре рассмотрены эпигенетические механизмы активации и регуляции факторов транскрипции p53 и E2F1, которые могут способствовать выживанию или гибели нейронов и глиальных клеток после травматического повреждения. Рассмотрены перспективы дальнейших исследований механизмов регуляции p53 и E2F1, в том числе с участием гистондеацетилаз, для разработки нейропротекторов.

Ключевые слова: ацетилирование, гистондеацетилазы, аксотомия, p53, E2F1, апоптоз

DOI: 10.31857/S0233475523060038, **EDN:** FMPUXS

ВВЕДЕНИЕ

Эпигенетика — быстро развивающаяся область биологических исследований. Наиболее распространены эпигенетические модификации, возникающие вследствие метилирования ДНК и ацетилирования гистонов. Ацетилирование остатков лизина является одной из наиболее изученных и устойчивых модификаций гистонов, регулирующих их связывание с ДНК, доступ к факторам транскрипции и, следовательно, экспрессию генов. Ацетилирование катализируется гистонацетилазами (НАТ) с использованием ацетил-коэнзима А в качестве донора ацетильной группы, а деацетилирование — деацетилазами гистонов (HDAC). Функция НАТ и HDAC не ограничивается только гистоновыми белками и регуляцией транскрипции генов. Ряд негистоновых белков, таких как факторы транскрипции (p53, NF-κB, FoxB3, c-Myc, E2F1, HIF-1α и др.), сигнальные белки (STAT3, β-катенин, SMAD7), шапероны и структурные белки (α-тубулин, импортин-α, Ku70, HSP90) и многие другие также подвергаются ацетилированию [1]. Количество идентифицированных на сегодняшний день белков, активность которых регулируется ацетили-

рованием/деацетилированием, наверняка ниже фактического их количества. Путем посттрансляционного ацетилирования факторов транскрипции и сигнальных белков регулируется рост, дифференцировка, миграция, выживание и гибель клеток как в норме, так и при повреждении [2]. При этом эпигенетические модификации обратимы, что делает их многообещающими кандидатами для терапии системных заболеваний. Несмотря на то что ацетилированию подвергается большее количество внутриклеточных белков, чем фосфорилированию, процесс фосфорилирования/дефосфорилирования сигнальных белков в настоящее время изучен наиболее детально, чем ацетилирование [2, 3]. Описаны сотни киназ и несопоставимо меньшее количество ацетилаз, идентифицированы десятки киназных каскадов и ни одного ацетилазного.

Изучение ацетилирования/деацетилирования негистоновых белков началось в связи с успехами клинического использования ингибиторов деацетилаз гистонов (iHDAC) в терапии различных форм рака и было обусловлено поиском причин цитотоксичности неселективных iHDAC [4]. Несмотря на то что в основном изучается противо-

раковая активность iHDAC, многочисленные исследования показывают, что iHDAC обладают нейропротекторным и нейрорегенеративным эффектами, начиная от снижения гибели клеток мозга и заканчивая стимуляцией репарации и регенерации при экспериментальном и клиническом инсульте [5, 6], при нейродегенеративных заболеваниях [7], и эффективны для лечения психических расстройств [8].

Исследований, направленных на изучение ацетилирования/деацетилирования негистоновых белков в клетках центральной нервной системы (ЦНС) крайне мало, а исследования этих процессов при травматическом повреждении нейронов периферической нервной системы практически отсутствуют.

Аксональное повреждение, на котором мы остановили свое внимание, имеет место при спортивных и бытовых травмах, ошибках медперсонала при проведении инъекций, дорожно-транспортных происшествиях и т.д. [9, 10]. Кроме того, повреждение аксона сопровождается ранние стадии нейродегенеративных расстройств, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона, а также развитие бокового амиотрофического склероза [11]. Аксотомия инициирует сложный каскад сигнальных и метаболических процессов, направленных на гибель или выживание нейрона.

В этом обзоре мы не будем подробно останавливаться на характеристике и механизмах действия различных семейств НАТ и HDAC, об этом было сказано в других работах [1, 6]. Данный обзор посвящен обсуждению роли системы НАТ/HDAC в регуляции активности важнейших факторов транскрипции, таких как p53 и E2F1, от которых во многом будет зависеть судьба нервных клеток после острого или хронического повреждения. Мы представим новые доказательства, свидетельствующие о дисбалансе НАТ/HDAC и, как следствие, изменении гомеостаза ацетилирования как основных причин дисфункции нервных клеток и их гибели. Наконец, мы попытаемся обосновать перспективы использования регуляции системы НАТ/HDAC для нейропротекторной терапии.

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ И РЕГЕНЕРАЦИИ НЕЙРОНОВ ПОСЛЕ АКСОТОМИИ

Аксотомия представляет собой полный физический разрыв в аксоне, вызванный растяжением или перерезкой [12]. Перерезка нерва (аксотомия) характеризуется тремя основными молекулярно-клеточными событиями: валлерова дегенерация отрезанного аксона, гибель поврежденного нейрона или его регенерация с отрастанием аксона и восстановлением нервных связей. Уяз-

вимость нейронов к аксотомии зависит от ряда факторов, таких как локализация, возраст и состояние. Внутренний ответ нейронов на повреждение аксонов заметно различается между нейронами периферической и центральной нервной системы. Нейроны периферической нервной системы (ПНС) обычно регенерируют и выживают, в то время как многие нейроны в ЦНС подвергаются дегенерации и гибели после аксотомии. Это связано с нейрональными факторами, такими как различия в экспрессии генов в ответ на аксотомии, с ненейрональными факторами, такими как тормозящие регенерацию иммунные белки, или с взаимодействием обоих типов факторов [9, 10]. У молодых животных повреждение аксонов приводит к ретроградной дегенерации и гибели нейронов как периферической, так и центральной нервной системы [9]. Как правило, чем более удалено поражение от тела нейрона, тем более устойчивым к аксотомии является аксон [9]. При его повреждении происходит передача сигналов к соме, вызывающих дифференциальную экспрессию генов. На сегодняшний день обнаружено несколько механизмов, регулирующих ретроградную передачу сигналов о повреждении. К ним относятся приток Ca^{2+} , локальный и ретроградный синтез аксоплазматических белков, прекращение притока питательных веществ с периферии [13, 14]. Повышенный уровень Ca^{2+} активирует несколько сигнальных каскадов, чтобы инициировать регенерацию. Например, известно, что Ca^{2+} активирует аденилатциклазу для повышения уровня внутриклеточного cAMP, что впоследствии приводит к CREB-зависимой экспрессии генов [15]. Кроме того, Ca^{2+} влияет на эпигенетическую регуляцию, что изменяет транскриптом [13, 16].

Выявлено несколько белков, синтезируемых или активируемых при повреждении аксонов, которые могут участвовать в передаче сигнала повреждения. К ним относятся STAT3, JNK, MAPK и другие киназы [17]. Они в свою очередь могут активировать нижестоящие факторы транскрипции через сложные пути, что вызывает изменения паттернов экспрессии генов в поврежденных нейронах [13, 15]. Например, ретроградный транспорт фосфорилированной формы киназ, регулируемых внеклеточными сигналами ERK1 и ERK2, активирует фактор транскрипции ELK1, тогда как c-Jun N-терминальная киназа JNK фосфорилирует белок c-Jun и активирует AMP-зависимый фактор транскрипции ATF3 [18]. Хотя экспрессия генов, способствующих росту в зрелых нейронах, со временем снижается как в ПНС, так и в ЦНС, после аксонального повреждения нейроны ЦНС проявляют плохую способность к регенерации, тогда как нейроны ПНС способны к восстановлению утраченных связей посредством активации транскрипции большого репертуара генов, свя-

занных с регенерацией (regeneration-associated genes, RAGs), на экспрессию которых влияет передача сигналов повреждения [13, 14]. Кроме того, полногеномное исследование аксотомированных нейронов ПНС привело к предположению о том, что активация специфических факторов транскрипции может служить ключевым узлом в регуляторных сетях, переключающих нейроны ПНС в регенеративное состояние. К таким факторам транскрипции относят: CREB (cAMP response element-binding protein), N-концевая киназа c-Jun или Smad1 (Mothers against decapentaplegic homolog 1 или SMAD family member 1), STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3) и AMP-зависимый фактор транскрипции ATF3 (Activating Transcription Factor-3) [19].

Исследования последних лет свидетельствуют о важной роли эпигенетической регуляции в судьбе нейронов после травматического повреждения нервов. Подтверждается участие эпигенетических механизмов в дифференцировке [20, 21], повреждении [22] и регенерации [14, 16, 17, 23, 24] нервных клеток в основном центральной нервной системы. Также объясняется значение эпигенетических механизмов в нейропластичности, обучении и памяти [25]. Однако роль эпигенетической регуляции при травматическом повреждении периферических нервов остается малоизученной.

2. ФЕРМЕНТЫ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ И ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ БЕЛКОВ И ИХ РОЛЬ В ВЫЖИВАНИИ И СМЕРТИ НЕЙРОНОВ ПОСЛЕ НЕЙРОТРАВМЫ

Ацетилирование и деацетилирование гистонов и негистоновых белков осуществляют деацетилазы гистонов (HDAC) и гистонацетилтрансферазы (НАТ). НАТ переносят ацетильные группы от ацетил-коэнзима А на аминокислотные остатки лизина, а HDAC, напротив, катализируют процесс удаления ацетильных групп. Поскольку гистоны были первыми идентифицированными мишенями деацетилаз и ацетилтрансфераз, эти ферменты были названы “гистоновыми”. Дальнейшее изучение роли посттрансляционного ацетилирования/деацетилирования негистоновых белков было связано с успехами клинического использования ингибиторов HDAC в терапии различных форм рака и было обусловлено поиском причин цитотоксичности неселективных ингибиторов HDAC. Были идентифицированы негистоновые субстраты НАТ и HDAC, которые являются супрессорами опухолей, белками внутриклеточной сигнализации, стероидными рецепторами, факторами транскрипции и корегуляторами, а также структурными белками, шаперонами и белками ядерного импорта. Эти белки регулируют выживание и гибель клеток, репликацию, репарацию ДНК,

клеточный цикл, реакцию клеток на стресс и старение и эволюционно являются первичными мишенями НАТ и HDAC [2].

HDAC и НАТ широко представлены в нервной системе. Однако роль разных изоформ HDAC в выживании и смерти нервных клеток неоднозначна. Некоторые HDAC опосредуют процессы выживания, в то время как другие участвуют в нейротоксических реакциях клеток, а третьи могут проявлять как нейропротекторные, так и патологические свойства в зависимости от типа клеток, их внутриклеточной локализации и характера посттрансляционных модификаций ферментов [26].

Становится все более очевидным, что НАТ/HDAC обладают способностью регулировать различные клеточные системы, одновременно влияя на патогенетические процессы на разных уровнях. В то же время эпигенетические модификации, такие как ацетилирование, обратимы, что делает их перспективными кандидатами для лечения системных заболеваний.

Показано, что iHDAC оказывают нейропротекторный эффект в опытах с моделированием повреждения спинного мозга [20, 23, 27], а также при аксотомии зрительного нерва [13, 22, 28], что свидетельствует об их потенциале в терапии нейротравм.

2.1. Гистонацетилтрансферазы

В зависимости от внутриклеточной локализации НАТ подразделяются на тип А и тип В, которые либо содержат, либо не содержат бромодомен [29]. НАТ А-типа в основном осуществляют ацетилирование, связанное с транскрипцией. Цитоплазматические НАТ В-типа ацетируют синтезированные *de novo* гистоны и негистоновые белки. На основании гомологии последовательностей, а также общих структурных особенностей и функций НАТ были сгруппированы в три основные категории: GNAT (GCN5-связанные N-ацетилтрансферазы), EP300/CREBBP (E1A-связывающий белок p300 и CREB-связывающий белок) и семейство MYST. PCAF (связанный с p300/CBP фактор), принадлежащий к семейству GNAT, является наиболее важным ферментом, ацетилирующим негистоновые белки [1, 30]. Кроме того, PCAF — единственный НАТ, даже при полном нокауте, у которого не наблюдается афенотипических изменений [31].

Повреждение ветвей периферических аксонов, но не центральных ветвей аксонов, увеличивает глобальное ацетилирование гистонов H3 и H4 в нейронах спинномозговых ганглиев (dorsal root ganglia, DRG) [13, 14].

2.2. Деацетилазы гистонов

В соответствии с функциями, клеточной локализацией и паттернами экспрессии у млекопитающих выделяют четыре класса HDAC. Класс I (HDAC1, 2, 3 и 8), класс II (HDAC4, 5, 6, 7, 9 и 10) и класс IV (HDAC11) – это цинк-зависимые ферменты, в то время как у ферментов III класса – сиртуинов (Sirtuins) в качестве кофактора выступает NAD^+ [1].

HDAC I класса локализируются в ядре, повсеместно экспрессируются в тканях млекопитающих (за исключением HDAC8, который специфичен для мышц). Эти ферменты участвуют в регуляции генов транскрипции через формирование стабильных транскрипционных комплексов. HDAC1 и HDAC2 входят в состав комплексов Sin3, NuRD, CoREST и NODE, которые ингибируют процесс транскрипции [1]. HDAC1 может играть двоякую роль в регуляции жизни и смерти нейронов. Если HDAC1 взаимодействует с HDAC3, это приводит к смерти нейронов, но он также может выступать в роли нейропротектора в случае взаимодействия его с HDAC2, более короткой формой HDAC9 [32]. HDAC3 входит в состав корепрессорного комплекса NCoR/SMRT и регулирует экспрессию генов путем деацетилирования гистонов, а также ряда негистоновых белков [1]. HDAC2 и HDAC3 играют важную роль при травмах головного мозга [33].

Деацетилазы гистонов оказывают значительное влияние на синтез миелина и регенерацию периферических нервов. HDAC1 и HDAC2 были изучены в этом плане первыми. У мышей с дефицитом HDAC1/2 наблюдается значительное снижение синтеза миелина и остановка развития [34]. При этом раннее вмешательство с помощью ингибиторов HDAC1/2 при повреждении седалищного нерва может способствовать ремиелинизации и улучшению функционального восстановления [35]. Кроме того, HDAC3, HDAC4 и HDAC5 участвуют в развитии и регенерации миелиновой оболочки в периферических нервах [36, 37].

Проведение секвенирования генома клеток седалищного нерва в период его развития и регенерации после повреждения показало, что после повреждения экспрессия генов большинства сиртуинов подавлена, в то время как гены остальных изоформ HDAC активировались, а в период развития – наоборот, что указывает на возможную связь между экспрессией ферментов ацетилирования/деацетилирования и их субстратов во время развития, повреждения и регенерации [35]. Уровни общего ацетилирования в ткани нерва увеличивались в 6 раз от раннего развития (1 день) до взрослой жизни (6 месяцев). Общий уровень ацетилирования клеток седалищного нерва при его повреждении у мышей был снижен примерно в

2.5 раза по сравнению с уровнем во время развития. При посттравматической регенерации (7 дней по сравнению с 14 днями) общий уровень ацетилирования в ткани седалищного нерва повышался примерно в 1.6 раза, что согласуется с уровнем во время развития, но противоположно уровню во время травмы [35]. Эти результаты предполагают, что изменения в общем ацетилировании во время развития, повреждения и регенерации седалищного нерва могут означать, что активация ацетилирования во время развития в первую очередь обусловлена подавлением деацетилаз HDAC1/2 и активацией ацетилтрансферазы PCAF [35].

Известно, что HDAC1 активируется на ранней стадии и подавляется на поздней стадии повреждения периферических нервов [38, 39]. Недавние исследования показали, что HDAC1 может также регулировать миелинизацию Шванновских клеток путем деацетилирования негистоновых белков, таких как eEF1A1 и NF- κ B [40, 41]. Данные, полученные Sun и коллегами, предполагают, что HDAC1 или PSAF также могут играть роль в повреждении и регенерации периферических нервов, регулируя ацетилирование негистоновых белков, таких как Foxo1, Cdkn1b, Nr3c1, Jup, Stat6, Jund и Hck. Также авторы предполагают, что IL6 является мишенью для HDAC1 и PSAF, подразумевая, что ацетилирование белка может быть одним из механизмов активации воспаления на ранних стадиях повреждения. На это также указывает тот факт, что использование ингибитора гистондеацетилазы SANA снижает экспрессию HDAC1/2 и воспаление [42].

HDAC1, HDAC2 и HDAC3 вовлечены в патогенез ишемического инсульта, болезни Паркинсона, спиноцеребеллярной атаксии, включая атаксию Фридрейха, болезни Гентингтона и болезни Альцгеймера. Кроме того, активность HDAC3 была связана с функцией памяти и поведением при кокаиновой зависимости. Большая часть исследований, посвященных функции HDAC3 в этих условиях, проводилась с использованием селективных ингибиторов или нокдауна HDAC3, причем большинство из них указывало на то, что ингибирование HDAC3 обеспечивает защитную среду для нейронов в животных моделях нейродегенерации. HDAC1, HDAC2, HDAC3, помимо всего прочего играют важную регулируемую роль в ганглиозных клетках сетчатки (RGC) после острого повреждения зрительного нерва и в модели глаукомы [22, 43–49].

Уровни экспрессии HDAC1, HDAC2, HDAC3 увеличиваются в посттравматических нейронах ПНС [39, 50]. HDAC1 и HDAC2, по-видимому, принимают участие в апоптозе клеток после аксотомии [39], но с какими функциональными последствиями это связано при аксотомии, неизвестно. Однако применение ингибитора HDAC

I класса MS-275 значительно увеличивает уровень ацетилирования гистонов H3 и H4, что активирует несколько генов, связанных с регенерацией [14].

HDAC класса II подразделяются на класс IIa (HDAC4, 5, 7, 9) и класса IIb (HDAC6 и 10). HDAC этих подклассов могут курсировать между цитозолем и ядром нервных клеток. Кальций-зависимый ядерный экспорт HDAC5 увеличивает ацетилирование гистонов в нейронах DRG после аксотомии периферических нервов, что иницирует экспрессию генов, участвующих в регенерации [13]. Среди них несколько известных генов, связанных с регенерацией, такие как N-концевая киназа Jun, Fos (forkhead box) и Klf (Krüppel-like factor).

HDAC6 вовлечен в ряд нейродегенеративных состояний [51, 52], включая индуцированное ишемией и реперфузией повреждение сетчатки крысы [53]. Yuan и коллеги показали, что применение ингибитора HDAC трихостатина А (TSA), а также тубацина (селективный ингибитор HDAC6) отменяло вызванное ишемией/реперфузией уменьшение толщины сетчатки, а также повышало выживаемость RGC. Повышенная экспрессия и активность HDAC6 в сетчатке из-за повреждения ишемией/реперфузией значительно ингибировались тубацином, который также ослаблял опосредованный ишемией/реперфузией апоптоз за счет снижения экспрессии TUNEL-позитивных RGC и проапоптотического белка Bax и, наоборот, увеличения экспрессии анти-апоптотического белка Bcl-2. Кроме того, тубацин повышал экспрессию связанного с аутофагией гена *BECN1* и ассоциированного с микротрубочками белка 1 легкой цепи 3B (LC3B), а также уровни Ptx2 [53].

HDAC5, HDAC6 и SIRT2 способны деацетилировать тубулин микротрубочек, регулируя рост аксонов [26]. Например, повышенный уровень HDAC5 после периферического повреждения приводит к деацетилированию тубулина проксимальнее места повреждения, тем самым дестабилизируя микротрубочки, что способствует динамической перестройки конусов роста и регенерации аксонов. Чтобы выяснить, как HDAC5 транспортируется к кончикам поврежденных аксонов, в недавнем исследовании было установлено, что HDAC5 способна взаимодействовать с активизирующим белком филамином А [54].

Класс III HDAC (SIRT1–7) включает в себя NAD^+ -зависимые ферменты, которые локализуются как в ядре, так и в цитоплазме: SIRT1, SIRT6 и SIRT7 — в ядре, в то время как SIRT2 преимущественно в цитозоле, а SIRT3, SIRT4 и SIRT5 находятся исключительно в митохондриях. Наиболее изученными являются SIRT1 и SIRT2. Существует большое количество данных, свидетельствующих о нейропротекторных свойствах SIRT1 при

ишемическом инсульте, травмах головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях [55, 56]. У мышей, нокаутных по SIRT1, наблюдалось увеличение размера инфаркта при окклюзии средней мозговой артерии [57], тогда как мыши со сверхэкспрессией SIRT1 оказывались более устойчивыми к ишемии [58]. Активаторы SIRT1 уменьшают размер инфаркта [59]. SIRT2, как правило, наоборот отводят проапоптотическую роль. Фармакологическое ингибирование или нокдаун SIRT2 может препятствовать апоптозу нейронов при ишемическом инсульте [55, 60, 61].

Класс IV HDAC и его единственный представитель HDAC11 конструктивно отличается от других HDAC и имеет ядерно-цитоплазматическую локализацию. HDAC11 является членом белкового комплекса “выживания моторного нейрона” (“Survival Motor Neuron (SMN) protein complex”), играя функциональную роль в сплайсинге мРНК [62].

На модели перерезки седалищного нерва показано, что аксотомия вызывает значительное увеличение уровня HDAC1, HDAC2 и HDAC3 [39, 63, 64], приводит к снижению уровня ацетилирования гистонов H3 и H4, а также вызывает транслокацию HDAC1 из ядра в цитоплазму и, наоборот, транслокацию HDAC3 из цитоплазмы в ядро (рис. 1). В результате аксотомии HDAC1 перемещается в цитоплазму нейронов DRG, где опосредует деацетилирование факторов транскрипции E2F1 и p53, что может приводить к нарушению их транскрипционной активности и усилению проапоптотического взаимодействия с митохондриями [64].

Так как активация гистондеацетилаз и деацетилирование гистонов приводят к подавлению белкового синтеза, то можно рассматривать изменения уровня данных белков как начальные этапы патологического процесса. Кроме того, иммунофлуоресцентный анализ показал, что в аксотомированных ганглиях происходит транслокация HDAC1 из ядра в цитоплазму в первые 24 ч после повреждения. Это происходит на фоне снижения уровня ацетилирования гистонов 3 и 4 — основных ядерных субстратов HDAC I класса [39]. Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности HDAC1, HDAC2 и HDAC3 в реакцию клеток ганглиев на аксотомию [64]. Важным является факт повышенного содержания HDAC1 в цитоплазме клеток аксотомированных ганглиев. Это указывает на дополнительную нетранскрипционную активность HDAC1: обнаруженная в цитоплазме HDAC1 способна деацетилировать различные цитоплазматические белки, в том числе изученные нами факторы транскрипции p53 и E2F1, повышенное содержание которых мы также наблюдаем в аксотомированных нейронах [63, 65] и активность которых регулируется путем

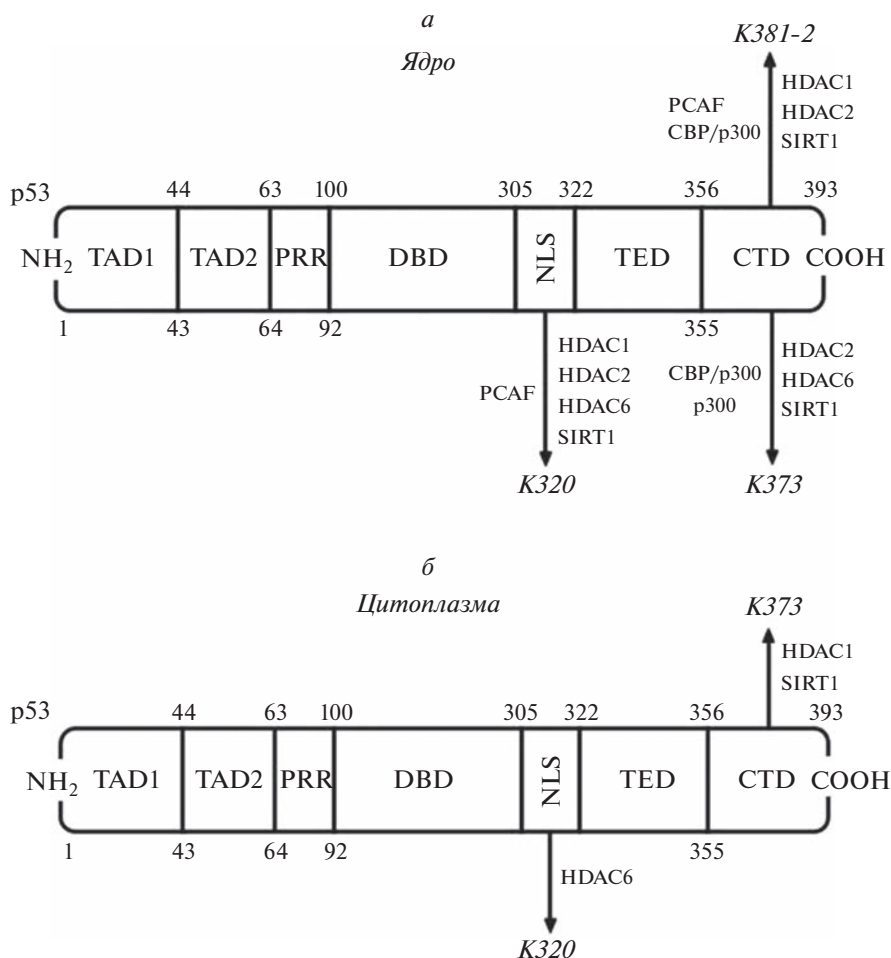


Рис. 1. Доменная структура и сайты ацетилирования фактора транскрипции p53: TAD1 и TAD2 – внутренне неупорядоченные транскрипционные домены, PRR – богатый пролином домен, DBD – ДНК-связывающий домен, NLS – сигнал ядерной локализации, TED – домен, ответственный за тетрамеризацию, CTD – внутренне неупорядоченный С-концевой домен, регулирующий активность p53; *а* – в ядре, *б* – в цитоплазме.

их ацетилирования/деацетилирования по остаткам лизина как в ядре, так и в цитоплазме.

3. НЕГИСТОНОВЫЕ СУБСТРАТЫ НАТ И HDAC ПРИ АКСОТОМИИ

Ацетилирование остатков лизина в белке приводит к конформационным изменениям белка и, следовательно, изменению его ферментативной активности, изменению липофильности белка и его внутриклеточной локализации, к изменению характера взаимодействия белка с другими белками, создавать новые сайты стыковки. При этом различные ковалентные посттрансляционные модификации могут конкурировать за одни и те же остатки лизина, необходимые для передачи сигналов или субклеточной локализации белка [66]. Интересно, что паттерны ацетилирования белков органоспецифичны. Таким образом, ацетилирование регулирует функционирование белка на

нескольких уровнях, оказывая влияние на его ферментативную активность, характер взаимодействия с другими белками, внутриклеточную локализацию, продолжительность жизни и на другие свойства белков.

Основным видом гибели клеток при аксотомии является апоптоз. Протеомные исследования экспрессии сотен белков в аксотомированных ганглиях беспозвоночных и млекопитающих указывают на последовательное повышение уровня многих сигнальных белков, способных инициировать, опосредовать или регулировать апоптоз, а также ряда белков с антиапоптотическим действием [50, 63]. На развитие апоптоза указывала повышенная экспрессия проапоптотических белков, таких как p53, p38, p75, c-Мyc, E2F1, JNK, AIF, Par4, DYRK1A, NMDAR2a, GADD153, GAD65/67, Smac/DIABLO, каспаз и PSR. Однако при этом повышался также и уровень антиапоптотических белков, в том числе рецепторов фак-

торов роста EGFR и эстрогенов, протеинкиназ ERK1 и 5, Akt, фосфатазы MKP1, белков p53, p21Waf1, MDM2 [50].

Роли посттрансляционного ацетилирования и деацетилирования факторов транскрипции p53 и E2F1, играющих центральную роль в регуляции апоптоза нервных клеток при аксотомии [50, 63, 65], будут рассмотрены в нашем обзоре более подробно.

3.1. Фактор транскрипции p53

Белок p53 контролирует транскрипцию сотен генов, участвующих в регуляции репарации ДНК, в остановке клеточного цикла, регулирует метаболизм, трансляцию мРНК, апоптоз и аутофагию. Негативными регуляторами p53 являются p21WAF1, p67 и MDM2 [67].

В нормальных нейронах уровни p53 невысоки. После синтеза в цитоплазме он транспортируется в ядро, где связывается с ДНК. Несвязанный p53 образует комплекс с MDM2, который моноубиквитинирует его и транспортирует обратно в цитоплазму, где он дополнительно убиквитинируется и быстро деградирует в протеасомах. При активации онкогенов, радиационном повреждении ДНК или окислительном стрессе p53 фосфорилируется протеинкиназами JNK, p38, ERK и тому подобными, что предотвращает его взаимодействие с MDM2, препятствует деградации и значительно повышает его уровень в ядре. Белок p53 тетрамеризуется, связывается с ДНК и стимулирует транскрипцию целой группы генов, содержащих в регуляторной области специальную нуклеотидную последовательность p53RE (p53-response element). Уже известно более 600 таких p53RE [67].

Выделен целый ряд состояний, способных активировать p53: истощение запасов нуклеотидов, нарушения цитоскелета, нарушения биогенеза рибосом, гипоксия и ишемия, гипероксия, отсутствие или избыток некоторых факторов роста или цитокинов, нарушения клеточной адгезии и фокальных контактов, нарушение прикрепления клеток к субстрату (что сопровождается p53-зависимым аноиксом), действие монооксида азота (NO) и многое другое. Все эти состояния вызывают характерные для каждого из них модификации как самого белка p53, так и сигнальных систем, контролирующих его уровень и активность [68].

Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК, репарация повреждений ДНК, а при сильном стрессовом сигнале — запуск апоптоза. Белок p53 также обнаруживается в клеточных ядрышках, являющихся “фабриками рибосом”. Нарушение синтеза рибосом в ядрышке повышает уровень p53, что передает сигнал о повреждении клетки в системы, контролирующие клеточный метаболизм, го-

меостаз и выживание. Однако ишемия головного мозга приводит к быстрому повышению уровня p53 и активации апоптоза клеток пенумбры [69]. Нами показано, что нейротравма вызывает увеличение уровня, а также транслокацию фактора транскрипции p53 из ядра в цитоплазму нейронов в спинномозговых ганглиях крыс [64]. Уровень p53 повышался уже через 1 ч после аксотомии на модели беспозвоночных и через 4 ч после перерезки седалищного нерва крысы, таким образом, повышение уровня p53 было ранним результатом аксотомии. Накопление p53 в цитоплазме нейронов указывает на дополнительную нетранскрипционную активность этого белка. p53 может индуцировать апоптоз не только транскрипционным путем, но и независимо от транскрипции. Цитоплазматический p53 непосредственно связывается с наружной митохондриальной мембраной, ингибирует антиапоптотические белки Bcl-2 и Bcl-xL, активирует проапоптотические белки Bax и Bid и стимулирует Bax/Bak-опосредованное формирование мегалопор в наружной митохондриальной мембране, через которые цитохром c, SMAC/Diablo, AIF и другие проапоптотические белки выходят в цитозоль и вызывают апоптоз. Митохондриальная транслокация p53 опосредует высвобождение цитохрома c и гибель нейронов гиппокампа после транзиторной глобальной ишемии мозга у крыс [70]. При этом пифитрин-μ не только снижал уровень митохондриального p53, Puma и Noxa, но также ингибировал выход цитохрома c и каспазы-9 в цитоплазму. Endo и коллеги показали, что митохондриальная транслокация p53 через Ca^{2+} -зависимую митохондриальную пору (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) опосредует высвобождение цитохрома c и способствует апоптозу нейронов гиппокампа у крыс после преходящей глобальной церебральной ишемии [71].

Белок p53 состоит из одной полипептидной цепи из 393 аминокислот (рис. 1). В клетках он образует тетрамер из двух одинаковых димеров. Как и у многих факторов транскрипции, в первичной структуре p53 можно выделить ряд функциональных модулей. На N-конце располагается трансактивационный домен TAD (transactivation domain), подразделяющийся на два субдомена TAD1 и TAD2 (аминокислоты 1–43 и 44–63). За ними следует богатый пролином участок PRR (proline-rich region, аминокислоты 64–92), ДНК-связывающий домен DBD (аминокислоты 10–305), который распознает p53RE и связывается с ним, сигнал ядерной локализации NLS (nuclear localization sequence), домен TET (tetramerization domain, аминокислоты 322–355), ответственный за тетрамеризацию p53, и C-концевой домен (аминокислоты 356–393). Сигнал ядерной локализации (NLS) расположен в C-концевой части белка между аминокислотами 305 и 322 [67].

Транскрипционная активность и функция p53 тонко регулируются интегрированным набором высоко скоординированных посттрансляционных модификаций. Ацетилирование p53 в С-концевом домене регулирует несколько аспектов активности p53, при этом данные о влиянии ацетилирования/деацетилирования негистоновых белков на клетки мозга крайне ограничены, а при аксотомии — практически отсутствуют.

p53 был первым открытым негистоновым белком, активность которого зависела от ацетилирования [72]. Ацетилирование p53 значительно усиливает его активность в ответ на повреждение ДНК. В нормальных клетках неацетилированный p53 способен активировать гены, которые участвуют в его отрицательной регуляции, например, *MDM2*. При повреждении ДНК ацетилирование p53 позволяет нарушить взаимодействие между *MDM2* и p53 и вызывает активацию проапоптотических генов [67].

В условиях нейродегенерации ацетилтрансферазы PCAF или p300 могут ацетилировать p53 по лизину в положениях K320, K373, K381 и K382; p300/CBP вовлечен в ацетилирование p53 по лизину в положениях K373, K381 и K382; hMOF и TIP60 вовлечены в ацетилирование p53 в K120 в ДНК-связывающем домене. HDAC класса I, SIRT1 и SIRT2 могут действовать как деацетилазы p53. HDAC6 деацетилирует p53 (K320) в цитоплазме, HDAC1, по-видимому, участвует в деацетилировании как ядерного (K320), так и цитоплазматического (K373) p53, в то время как HDAC2 является возможным ферментом деацетилирования p53 (K320, K373, K381, K382) исключительно в ядрах нейронов. Считается, что SIRT1 преимущественно локализован в ядрах нервных клеток, где он способен деацетилировать p53 по остаткам лизина в положениях K320, K373, K381 и K382, но показано, что в постинфарктных нейронах SIRT1 накапливался в цитоплазме [73], где может деацетилировать p53 в положении K373 [47, 74–78].

Трансактивационный домен TAD и С-концевой домен (CTD) белка-супрессора опухоли p53 представляет собой внутренне неупорядоченную область, которая связывается с различными белками-партнерами [79]. Важно отметить, что посттрансляционные модификации, такие как метилирование, фосфорилирование и ацетилирование, изменяют физико-химические свойства внутренне неупорядоченной области и модулируют ее функциональность. Следовательно, интересно исследовать изменение конформационного ансамбля с помощью посттрансляционных модификаций. Так, ацетилирование в положении K382 увеличивает склонность к образованию спиральной структуры в молекуле p53 и индуцирует образование гидрофобного ядра в спирали [79]. Если

лизин в положении K382 находится в неацетилированной форме, то между ним и другими положительно заряженными остатками в спирали происходит отталкивание и дестабилизация спирали, при этом ацетилирование остатков лизина стабилизирует структуру p53.

Knights и коллеги показали, что ацетилирование лизина в положении 320 предотвращает фосфорилирование критически важных серинов в NH_2 -концевой области p53; это позволяет активировать только гены, содержащие высокоаффинные сайты связывания с p53, такие как p21/WAF, что способствует выживанию клеток после повреждения ДНК. Напротив, ацетилирование по лизину в положении 373 приводит к гиперфосфорилированию NH_2 -концевых остатков p53 и усиливает взаимодействие с промоторами, к которым p53 обладает низким сродством к связыванию с ДНК, такими как те, которые содержатся в проапоптотических генах, что приводит к гибели клеток (рис. 1, 2). Кроме того, ацетилирование каждого из этих двух лизиновых кластеров по-разному регулирует взаимодействие p53 с коактиваторами и корепрессорами и приводит к различным профилям экспрессии генов [80].

Два лизина p53 в положениях 320 (K320) и 373 (K373) по-разному ацетилируются, влияя на клеточную судьбу [80]: ацетилирование K320 способствует выживанию клеток, тогда как ацетилирование K373 способствует гибели клеток. Кроме того, ацетилирование K320 необходимо для роста нейритов и регенерации аксонов [47, 74–78] (рис. 2).

Ацетилирование p53 в нейронах по лизинам на его С-конце (K372, K382) способствует росту их нейритов и аксонов и необходимо для регенерации аксонов *in vivo* [76, 77]. Опухолевой супрессор p53 и его ацетилтрансфераза p300/CBP образуют транскрипционный комплекс, который регулирует белок GAP-43, ассоциированный с ростом аксонов [81]. Эти результаты согласуются с данными наших недавних исследований, где было показано повышение уровня GAP-43 в ответ на аксотомии, а также на фоне введения неселективного ингибитора гистондеацетилаз вальпроата натрия [39].

Повышенное ацетилирование p53 в положении K381 снижает проапоптотическую активность p53 у мышей с условным нокаутом по HDAC1 и HDAC2 в аксотомированных ганглиозных клетках сетчатки (RGCs) [47]. Недавнее исследование *in vitro* позволяет предположить, что ацетилирование p53 по лизинам K381 и K382 ингибирует его способность активировать транскрипцию PUMA в нейронах коры головного мозга (рис. 2) [75]. Эти данные согласуются с данными, полученными в модели аксотомии у крыс [82].

тверждая тот факт, что ацетилирование этих лизинов не предотвращает ядерную локализацию p53 [75].

Было высказано предположение, что в ответ на повреждение ДНК фосфорилирование N-концевых остатков серина (S15, S33, S37) способствует стабилизации p53 и привлекает p300/CBP-ассоциированный фактор и PCAF для индукции ацетилирования p53 по C-концевым остаткам лизина. Причем ацетилирования лизинов K381 и K382, но не K373, достаточно для предотвращения проапоптотической активности p53 в нейронах [75]. В этих клетках с повреждением ДНК, вызванным камптотецином, запускается ацетилирование p53 по лизину K373, что, наряду со стабилизацией p53 и его фосфорилированием по серину 15, способствует связыванию p53 с проапоптотическим промотором PUMA и приводит к гибели нейронов [75]. Когда повреждение ДНК происходит в присутствии ингибитора HDAC, происходит ацетилирование лизина 373, вызванное повреждением ДНК, как в первом случае, но при этом и лизины K320, K381 и K382 ацетилированы. Этот паттерн ацетилирования аннулирует способность p53 связываться с промотором PUMA и индуцировать апоптоз в поврежденных нейронах [75]. Ингибиторы HDAC подавляли p53-зависимую экспрессию PUMA, критическое сигнальное промежуточное звено, связывающее p53 с активацией Вах, тем самым предотвращая постмитохондриальные события, включая расщепление каспазы-9 и каспазы-3.

В дополнение к этому на модели *in vitro* было показано, что ингибирование HDAC способствует росту нейронов и противодействует коллапсу конусов роста посредством p300/CBP и PCAF-зависимого ацетилирования p53 в первичных нейронах коры мозга крысы [78]. По-видимому, деацетилирование остатков лизина K320, K381 и K382 имеет решающее значение для активации экспрессии проапоптотических генов [22]. HDAC1 и HDAC2 активируют p53 путем деацетилирования его остатков лизина K381 и K382, что приводит к увеличению экспрессии генов, участвующих в апоптозе, в том числе, Bbc3 (PUMA) и Bim. Эти белки затем способствуют активации Вах, что приводит к активации каспаз и эндонуклеазы, которая расщепляет ДНК. HDAC2 может дополнительно подавлять другие мишени p53, такие как p21 [22].

На модели аксотомии путем перерезки седалищного нерва крыс было продемонстрировано снижение уровня ацетилирования p53 по лизину 373 в аксотомированных ганглиях. Это происходило на фоне увеличения активности HDAC1 [64]. Повышение активности HDAC1, по-видимому, связано с последующим снижением ацетилирования фактора транскрипции p53. На моде-

ли аксотомии *in vivo* неселективный ингибитор HDAC I класса вальпроат натрия отменял вызванное аксотомией снижение уровня ацетилирования p53 (K373), а также накопление p53 в цитоплазме, что защищало глиальные клетки ганглиев крыс от апоптоза, вызванного аксотомией [64]. Это говорит о том, что, во-первых, уровень ацетилирования белка зависит от деацетилазной активности HDAC1, во-вторых, влияет на внутриклеточную локализацию белка. Обнаружено прямое физическое взаимодействие HDAC1 с ацетилированной формой p53 (K373) в цитоплазме клеток аксотомированных ганглиев [64]. Из чего следует, что проапоптотическое действие HDAC1 в аксотомированных ганглиях связано с регуляцией уровня и внутриклеточной локализации фактора транскрипции p53 в результате его деацетилирования.

3.2. Фактор транскрипции E2F1

Регуляторами синтеза и активности p53 при аксотомии являются факторы транскрипции E2F1, с-Мус и p38, гиперэкспрессия которых была показана в протеомном исследовании аксотомированных ганглиев брюшной нервной цепочки раков [50].

Фактор транскрипции E2F1 является одним из ключевых игроков, определяющих судьбу клетки. Он контролирует экспрессию различных генов, регулирующих синтез и репарацию ДНК, клеточный цикл и апоптоз [83]. E2F1 стимулирует апоптоз при нарушении или подавлении клеточного цикла, что характерно для нейронов [84]. Его синтез контролируется MAP-киназой p38 и фактором транскрипции с-Мус [85]. E2F1 индуцирует экспрессию различных проапоптотических белков, таких как каспазы-3, -7, -8 и -9, Smac/DIABLO, Araf-1, Bcl-2, p53 и p73 [84, 86], повышенное содержание которых наблюдается в аксотомированных ганглиях беспозвоночных уже в первые 4 ч после аксонального повреждения [50], что свидетельствует об участии E2F1 в апоптозе нейронов при аксотомии. Важное наблюдение состоит в том, что уровень экспрессии E2F1 в наших экспериментах повышался как в цитоплазме, так и в ядрах нейронов. Вероятно, повышенное содержание белка в цитоплазме складывалось как за счет экспорта белка из ядра, так и за счет увеличения экспрессии самого гена [64, 87].

В ядре E2F1, очевидно, действует как фактор транскрипции. В случае цитоплазматической локализации одна из возможных функций E2F1 — его взаимодействие с митохондриями и регуляция их функций, например, путем непосредственного взаимодействия с белком Bcl-xL на наружной митохондриальной мембране и регулирования ее пермеабилитации [88, 89]. Экспрессия E2F1 в аксотомированных ганглиях достигает своего мак-

симума уже к 4 ч после аксотомии и постепенно снижается. Максимальный уровень мРНК белка наблюдается через 4 ч после аксотомии и остается повышенным в течение первых 24 ч после травмы [64]. Это говорит, во-первых, о скором E2F1-зависимом ответе в нейронах, развивающемся при аксональном стрессе, во-вторых, указывает на роль E2F1 в запуске апоптоза, после чего его содержание в клетке стремится к минимуму. Внутривentricularное введение низкомолекулярного ингибитора E2F1 HLM006474 крысам в течение 7 сут полностью устраняло индуцированную аксотомией повышенную экспрессию проапоптотически активных белков каспазы-3 и p53, защищая аксотомированные клетки DRG от апоптоза [87]. Следовательно, фактор транскрипции E2F1 может быть вовлечен в индуцированное аксотомией повреждение нейронов DRG и глиальных клеток.

Увеличение уровня E2F1 предшествовало активации каспазы-3 и изменениям уровня p53 в аксотомированных ганглиях крысы. Последовательное увеличение экспрессии E2F1 и p53 также показано с помощью протеомного анализа аксотомированных ганглиев раков [50]. Мы предполагаем, что в условиях аксотомии фактор транскрипции E2F1 может участвовать в активации p53 в качестве нижестоящего фактора-мишени, который, в свою очередь, вызывает вторичные изменения экспрессии генов и белков, запускающих апоптоз. Ингибирование пути E2F1/p53 предотвращает апоптоз нейронов [86, 87].

Таким образом, повышение экспрессии E2F1 может быть ключевым событием в инициации апоптоза нейронов и отдаленных глиальных клеток в аксотомированных DRG и подготавливает последующие изменения других белков, в частности p53, и общий ответ клеток в ответ на повреждение.

Белки семейства E2F обычно группируются по функциям в две категории: активаторы транскрипции и репрессоры. Активаторы, такие как E2F1, E2F2 и E2F3a, стимулируют и помогают развитию клеточного цикла, в то время как репрессоры (E2F3b, E2F4–8) ингибируют клеточный цикл. Среди белков E2F только E2F1–3a имеют сигнал ядерной локализации и взаимодействует с p53 [90].

Fogal и коллеги сообщили, что аминоконцевой домен E2F1 (аминокислоты 1–108) связывается с аминокислотными остатками 347–370 p53, которые перекрываются с его С-концевой ядерной экспортной последовательностью (NES), усиливая удержание в ядре фосфорилированного по серину 315 p53 и, таким образом, индуцируя p21, Cip1, PIG3 и Bax [91].

E2F1 ацетируется несколькими НАТ, что приводит к увеличению его способности связы-

ваться с ДНК и его транскрипционной активности, а также повышается его время жизни. E2F1 стабилизируется в ответ на повреждение ДНК за счет его ацетилирования PCAF, при этом E2F1 может оставаться активным в апоптотических нейронах даже в отсутствие СВР или p300. PCAF ацетирует E2F1 по трем лизинам в положениях K117, K120 и K125 [92].

Ген-супрессор опухоли ретинобластомы Rb жестко контролирует E2F1 во время клеточного цикла. В более поздней литературе сообщается о роли HDAC как клеточных регуляторов E2F1/Rb-зависимой транскрипции. Было показано, что Rb связывается с HDAC класса I, тем самым обеспечивая репрессию транскрипции генов на E2F1-чувствительных промоторах. Действительно, ингибитор гистондеацетилаз TSA проявляет заметные токсические эффекты в нормальных нейронных клетках, активируя E2F1 [93].

Таким образом, в совокупности эти данные позволяют предположить следующую модель. Белок E2F1, присутствующий как часть комплекса E2F1–Rb, вероятно, неацетилирован. Этот комплекс обладает специфическими ДНК-связывающими свойствами, репрессивен к транскрипции и стабилен, поскольку Rb предотвращает убиквитин-зависимую деградацию E2F1. Напротив, свободный E2F1, по крайней мере частично, ацетилирован, обладает ДНК-связывающими свойствами, отличными от Rb-связанного комплекса, способен активировать транскрипцию и стабилен, поскольку белки-коактиваторы, такие как PCAF, могут предотвращать его деградацию посредством ацетилирования. До сих пор неясно, сосуществуют ли эти два комплекса в клетке во времени, или же комплекс E2F1–Rb заменяется комплексом E2F1–PCAF. Исходя из текущих знаний, можно было бы ожидать, что комплекс E2F1–Rb активен в G1-фазе, а свободный белок E2F1 в комплексе с PCAF активен в S-фазе. Создание специфических антител с высоким сродством, которые распознают ацетилированную форму эндогенного E2F1, будет полезно для решения этой проблемы. Таким образом, по-видимому, в ответ на повреждение ДНК образуются два разных комплекса E2F1-Rb: репрессирующий комплекс, содержащий HDAC1 и активирующий комплекс, содержащий PCAF. Конститутивная репрессия транскрипционной активности E2F1 через HDAC необходима для выживания нейронов [93].

В совокупности эти данные демонстрируют, что ацетилирование/деацетилирование представляет собой новый механизм, с помощью которого регулируется активность E2F1. Однако информация об ацетилировании/деацетилировании E2F1 в клетках периферической нервной системы как норме, так и при патологии отсутствует.

На нашей модели перерезки седалищного нерва было продемонстрировано снижение уровня ацетилирования E2F1 по лизину 120 в аксотомированных ганглиях крыс [64]. Это происходило на фоне увеличения активности HDAC1. Повышение активности HDAC1, по-видимому, связано с последующим снижением ацетилирования фактора транскрипции E2F1. Ингибитор гистон-деацетилаз вальпроат натрия увеличивал уровень ацетилирования E2F1 по лизину K120 в нейронах аксотомированных ганглиев, защищая их клетки от апоптоза. Введение ингибитора HDAC I класса вальпроата натрия внутривентрикулярно в течение 7 сут после аксотомии снижало уровень E2F1 в цитоплазме, но увеличивало в ядре [64]. Это говорит о том, что, во-первых, уровень ацетилирования белка зависит от деацетилазной активности HDAC1, во-вторых, влияет на внутриклеточную локализацию белка. Обнаружено прямое физическое взаимодействие HDAC1 с ацетилированной формой E2F1 в цитоплазме клеток аксотомированных ганглиев [64]. Наши данные подтверждают обоснованность использования низкомолекулярных ингибиторов активности HDAC в качестве терапевтических инструментов для защиты нейронов при неврологических повреждениях и заболеваниях.

К сожалению, несмотря на многообещающие экспериментальные данные о нейропротекторных эффектах ингибиторов HDAC, полученных на клеточных и животных моделях инсульта или нейротравмы, отсутствуют доказательства их эффективности у людей, поскольку клинические испытания III фазы с ингибиторами HDAC у больных после инсульта еще не проводились или не опубликованы (источник: Clinicaltrials.gov, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Основным ограничением клинического использования ингибиторов HDAC является отсутствие изоформ-специфических ингибиторов, которые способны преодолевать гематоэнцефалический барьер и имели бы меньше побочных эффектов. Остановимся более подробно на перспективах и проблемах клинического использования ингибиторов HDAC.

4. ПЕРСПЕКТИВЫ И ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНГИБИТОРОВ HDAC

На сегодняшний день пять ингибиторов HDAC одобрены для лечения Т-клеточной лимфомы и множественной миеломы: вориностат, белиностат, панобинолат, ромидеписин и хидамид [4]. Ингибиторы HDAC можно разделить на несколько классов: самый большой класс — это гидроксаматы (например, субероиланилид гидроксамовой кислоты или вориностат (SAHA), его аналоги белиностат и панобинолат и трихостатин А), бензамиды (например, MS-275 и хиде-

мид), циклические пептиды (например, ромидеписин) и алифатические кислоты (например, вальпроевая кислота, бутират натрия и фенилбутират). В основном это неселективные ингибиторы HDAC первого поколения. Их клиническое использование в онкологии показало, что они имеют побочные эффекты со стороны сердечно-сосудистой системы (нарушение баланса электролитов, аритмия сердца), гематологической системы (анемия, тромбоцитопения, лимфопения), со стороны желудочно-кишечного тракта (тошнота и рвота, анорексия и диарея), общая усталость и потеря веса.

Согласно результатам III фазы клинических испытаний (NCT00071721), лечение вальпроатами не препятствовало появлению ажитации или психоза, не замедляло снижения когнитивных или функциональных способностей у пациентов с болезнью Альцгеймера средней степени тяжести и так же, как и в случае использования препарата для лечения опухолей, было связано со значительными токсическими эффектами [94]. Неудачными были и результаты III фазы клинических испытаний вальпроевой кислоты для лечения бокового амиотрофического склероза (NCT00136110) в дозах, которые в настоящее время используются для лечения эпилепсии или биполярного расстройства [95].

Тем не менее вориностат рассматривается в качестве перспективного кандидата для лечения ряда заболеваний ЦНС. Поскольку побочные эффекты вориностата и других рап-HDACi в основном обратимы, то оптимизация дозы, режима введения и способов доставки рап-HDACi может повысить их клинические перспективы как для лечения рака, так и для лечения системных заболеваний ЦНС [8]. Однако селективность ингибиторов HDAC, вероятно, будет иметь решающее значение при терапии хронических заболеваний ЦНС, таких как нейродегенеративные заболевания, поскольку длительность использования требует более широких профилей их безопасности.

В связи с этим ингибиторы HDAC второго поколения разрабатываются как селективные по изоформам HDAC. Так, направленная регуляция транскрипции была бы более эффективной при направленной регуляции активности ядерных ферментов HDAC1, HDAC2 и HDAC3. В настоящее время доступен набор соединений: 5-арил-орто-аминоанилиды в качестве ингибиторов HDAC1/2, 4-фтор-орто-аминоанилиды как ингибиторы HDAC3, пара-арилгидроксамовые кислоты в качестве селективных ингибиторов HDAC6, орто/мета-арилгидроксамовые кислоты как селективные ингибиторы HDAC8 и HDAC11, основные гидроксамовые кислоты в качестве ингибиторов HDAC10, оксадиазолы, α -разветвленные гидрок-

самовые кислоты как ингибиторы HDAC4, HDAC 5, HDAC 7 и HDAC 9 [96].

В последнее время для искусственной селективной деградации aberrantных белков-мишеней, включая HDAC, активно рассматривается новая технология протеолиза целевого белка (proteolysis targeting chimera, PROTAC) [97, 98]. Ингибиторы PROTAC имеют ряд преимуществ по сравнению с традиционными ингибиторами HDAC. Например, PROTAC обладают более высокой специфичностью и значительно меньшей цитотоксичностью по сравнению с традиционными ингибиторами. PROTAC могут вызывать химически индуцированную деградацию HDAC и, таким образом, нарушать как ферментативную, так и неферментативную функцию белка. Более того, PROTAC можно использовать повторно в течение многих циклов, пока не будут удалены целевые белки, поэтому требуется очень низкая концентрация препарата. Совсем недавно были разработаны некоторые ингибиторы PROTAC с высокой селективностью и меньшей цитотоксичностью для деградации HDAC6 или SIRT2 [99–102]. Однако, на наш взгляд, ингибиторы PROTAC будут более полезны для терапии повреждений ПНС, чем ЦНС, ввиду их высокой молекулярной массы, что затрудняет прохождение ГЭБ.

Использование ингибиторов HDAC в качестве нейропротекторов имеет свои сложности. Наличие ГЭБ и низкая биодоступность ингибиторов для нервных клеток ограничивает их клиническое применение. Однако современные стратегии увеличения биодоступности лекарственных препаратов, такие как заключение ингибиторов в мицеллы и липосомы, использование различных наноносителей, а также использование метода доставки с усиленной конвекцией, позволят в дальнейшем преодолеть имеющиеся ограничения клинического применения ингибиторов HDAC не только для онкотерапии, но и для нейропротекторной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение активности или экспрессии НАТ в нейронах после травматического повреждения является критическим шагом для активации апоптоза. Нарушение гомеостаза ацетилирования изменяет профиль транскрипции, что приводит к повреждению и гибели нервных клеток. Это подтверждается исследованиями с использованием ингибиторов HDAC, которые снижают апоптоз нейронов. Вероятно, опосредованное ингибиторами HDAC изменение судьбы нейронов возможно только потому, что этого события можно избежать, манипулируя его причиной, но не следствием. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что ингибиторы HDAC являются многообещаю-

щими кандидатами в нейропротекторы. К сожалению, ингибиторы HDAC первого поколения крайне неспецифичны, что при длительном их использовании может обратить вспять опосредованную деацетилированием блокировку нежелательных неспецифических промоторов повреждения и привести к цитотоксичности. Действительно, например, TSA токсичен для нормальных нейронов вследствие его способности активировать E2F1. Таким образом, введение *in vivo* ингибиторов HDAC может повысить выживаемость поврежденных нейронов за счет очень высокой опасности для близко расположенных неповрежденных нейронов и глиальных клеток.

В настоящее время наша попытка признать важность поддержания гомеостаза ацетилирования для жизнеспособности нейронов после острого или хронического повреждения серьезно ограничена недостатком экспериментальных данных. По сравнению с хорошо изученной системой киназ и регуляцией белков путем их фосфорилирования/дефосфорилирования изучение системы НАТ/HDAC в нервных неонкотрансформированных клетках только началось, оставляя нам больше вопросов, чем ответов. До сих пор неизвестны пути и механизмы перекрестных помех между микроРНК и HDAC, актуальные при различных хронических заболеваниях человека.

Тем не менее несколько параллельных линий доказательств дают нам достаточно оснований, чтобы рассматривать систему ацетилирования/деацетилирования ядерных и цитоплазматических белков как вероятное направление терапевтического вмешательства при инсульте, нейротравме или нейродегенеративных заболеваниях. А значительные успехи в разработке ингибиторов HDAC второго поколения с высокой селективностью и биодоступностью дают надежду на их клиническое использование в качестве нейропротекторов в ближайшем будущем.

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

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда, проект № 21-15-00188.

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Demyanenko S., Sharifulina S. 2021. The role of post-translational acetylation and deacetylation of signaling proteins and transcription factors after cerebral ischemia: Facts and hypotheses. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (15), 7947.

2. Spange S., Wagner T., Heinzel T., Krämer O.H. 2009. Acetylation of non-histone proteins modulates cellular signalling at multiple levels. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **41** (1), 185–198.
3. Mrakovic M., Kleinheinz J., Fröhlich L.F. 2019. p53 at the crossroads between different types of HDAC inhibitor-mediated cancer cell death. *Int. J. Mol. Sci.* **20** (10), 2415.
4. Alseksek R.K., Ramadan W.S., Saleh E., El-Awady R. 2022. The role of HDACs in the response of cancer cells to cellular stress and the potential for therapeutic intervention. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (15), 8141.
5. Kao M.H., Lin T.N. 2019. Histone deacetylases in stroke. *Chin. J. Physiol.* **62** (3), 95–107.
6. Demyanenko S., Dzreyan V., Sharifulina S. 2021. Histone deacetylases and their isoform-specific inhibitors in ischemic stroke. *Biomedicines*. **9** (10), 1445.
7. Li Y., Gu Z., Lin S., Chen L., Dzreyan V., Eid M., Demyanenko S., He B. 2022. Histone deacetylases as epigenetic targets for treating Parkinson's disease. *Brain Sci.* **12** (5), 672.
8. Athira K.V., Sadanandan P., Chakravarty S. 2021. Repurposing vorinostat for the treatment of disorders affecting brain. *Neuromolecular Med.* **23** (4), 449–465.
9. Casas C., Isus L., Herrando-Grabulosa M., Mancuso F.M., Borrás E., Sabidó E., Forés J., Aloy P. 2015. Network-based proteomic approaches reveal the neurodegenerative, neuroprotective and pain-related mechanisms involved after retrograde axonal damage. *Sci. Rep.* **5**, 9185.
10. Abe N., Cavalli V. 2008. Nerve injury signaling. *Curr. Opin. Neurobiol.* **18** (3), 276–283.
11. Batulan Z., Nalbantoglu J., Durham H.D. 2005. Non-steroidal anti-inflammatory drugs differentially affect the heat shock response in cultured spinal cord cells. *Cell Stress Chaperones*. **10** (3), 185–196.
12. Richardson P.M., Miao T., Wu D., Zhang Y., Yeh J., Bo X. 2009. Responses of the nerve cell body to axotomy. *Neurosurgery*. **65** (4 Suppl), A74–A79.
13. Weng Y.L., Joseph J., An R., Song H., Ming G.L. 2016. Epigenetic regulation of axonal regenerative capacity. *Epigenomics*. **8** (10), 1429–1442.
14. Shin J.E., Cho Y. 2017. Epigenetic regulation of axon regeneration after neural injury. *Mol. Cells*. **40** (1), 10–16.
15. Rishal I., Fainzilber M. 2014. Axon-soma communication in neuronal injury. *Nat. Rev. Neurosci.* **15** (1), 32–42.
16. Wahane S., Halawani D., Zhou X., Zou H. 2019. Epigenetic regulation of axon regeneration and glial activation in injury responses. *Front. Genet.* **10**, 640.
17. Berry K.P., Lu Q.R. 2020. Chromatin modification and epigenetic control in functional nerve regeneration. *Semin. Cell Dev. Biol.* **97**, 74–83.
18. Mar F.M., Bonni A., Sousa M.M. 2014. Cell intrinsic control of axon regeneration. *EMBO Rep.* **15** (3), 254–263.
19. Bomze H.M., Bulsara K.R., Iskandar B.J., Caroni P., Skene J.H. 2001. Spinal axon regeneration evoked by replacing two growth cone proteins in adult neurons. *Nat. Neurosci.* **4** (1), 38–43.
20. Kameda T., Imamura T., Nakashima K. 2018. Epigenetic regulation of neural stem cell differentiation towards spinal cord regeneration. *Cell Tissue. Res.* **371** (1), 189–199.
21. Saha A., Tiwari S., Dharmarajan S., Otteson D.C., Belecky-Adams T.L. 2018. Class I histone deacetylases in retinal progenitors and differentiating ganglion cells. *Gene Expr. Patterns*. **30**, 37–48.
22. Schmitt H.M., Schlamp C.L., Nickells R.W. 2016. Role of HDACs in optic nerve damage-induced nuclear atrophy of retinal ganglion cells. *Neurosci. Lett.* **625**, 11–15.
23. Wong V.S., Langley B. 2016. Epigenetic changes following traumatic brain injury and their implications for outcome, recovery and therapy. *Neurosci. Lett.* **625**, 26–33.
24. Zhong J., Zou H. 2014. BMP signaling in axon regeneration. *Curr. Opin. Neurobiol.* **27**, 127–134.
25. Phan M.L., Gergues M.M., Mahidadia S., Jimenez-Castillo J., Vicario D.S., Bieszczad K.M. 2017. HDAC3 inhibitor RGFP966 modulates neuronal memory for vocal communication signals in a songbird model. *Front. Syst. Neurosci.* **11**, 65.
26. Thomas E.A., D'Mello S.R. 2018. Complex neuroprotective and neurotoxic effects of histone deacetylases. *J. Neurochem.* **145** (2), 96–110.
27. Wong J.K., Zou H. 2014. Reshaping the chromatin landscape after spinal cord injury. *Front. Biol. (Beijing)*. **9** (5), 356–366.
28. Schmitt H.M., Pelzel H.R., Schlamp C.L., Nickells R.W. 2014. Histone deacetylase 3 (HDAC3) plays an important role in retinal ganglion cell death after acute optic nerve injury. *Mol. Neurodegener.* **9**, 39.
29. Marmorstein R., Roth S.Y. 2001. Histone acetyltransferases: Function, structure, and catalysis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **11** (2), 155–161.
30. Kimura A., Matsubara K., Horikoshi M. 2005. A decade of histone acetylation: Marking eukaryotic chromosomes with specific codes. *J. Biochem.* **138** (6), 647–662.
31. Yamauchi T., Yamauchi J., Kuwata T., Tamura T., Yamashita T., Bae N., Westphal H., Ozato K., Nakatani Y. 2000. Distinct but overlapping roles of histone acetylase PCAF and of the closely related PCAF-B/GCN5 in mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **97** (21), 11303–11306.
32. Bardai F.H., Price V., Zaayman M., Wang L., D'Mello S.R. 2012. Histone deacetylase-1 (HDAC1) is a molecular switch between neuronal survival and death. *J. Biol. Chem.* **287** (42), 35444–35453.
33. Nagalakshmi B., Sagarkar S., Sakharkar A.J. 2018. Epigenetic mechanisms of traumatic brain injuries. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **157**, 263–298.
34. Chen Y.T., Zang X.F., Pan J., Zhu X.L., Chen F., Chen Z.B., Xu Y. 2012. Expression patterns of histone deacetylases in experimental stroke and potential targets for neuroprotection. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **39** (9), 751–758.
35. Sun J., Ji Y., Liang Q., Ming M., Chen Y., Zhang Q., Zhou S., Shen M., Ding F. 2022. Expression of protein acetylation regulators during peripheral nerve develop-

- ment, injury, and regeneration. *Front. Mol. Neurosci.* **15**, 888523.
36. Gomis-Coloma C., Velasco-Aviles S., Gomez-Sanchez J.A., Casillas-Bajo A., Backs J., Cabedo H. 2018. Class IIa histone deacetylases link cAMP signaling to the myelin transcriptional program of schwann cells. *J. Cell Biol.* **217**, 1249–1268.
 37. He X., Zhang L., Queme L.F., Liu X., Lu A., Waclaw R.R., Dong X., Zhou W., Kidd G., Yoon S.O., Buonanno A., Rubin J.B., Xin M., Nave K.A., Trapp B.D., Jankowski M.P., Lu Q.R. 2018. A histone deacetylase 3-dependent pathway delimits peripheral myelin growth and functional regeneration. *Nat. Med.* **24**, 338–351.
 38. Brügger V., Duman M., Bochud M., Mürger E., Heller M., Ruff S., Jacob C. 2017. Delaying histone deacetylase response to injury accelerates conversion into repair Schwann cells and nerve regeneration. *Nat. Commun.* **8**, 14272.
 39. Dzreyan V.A., Rodkin S.V., Pitinova M.A., Uzden-sky A.B. 2021. HDAC1 expression, histone deacetylation, and protective role of sodium valproate in the rat dorsal root ganglia after sciatic nerve transection. *Mol. Neurobiol.* **58** (1), 217–228.
 40. Chen Y., Wang H., Yoon S.O., Xu X., Hottiger M.O., Svaren J. 2011. HDAC-mediated deacetylation of NF-kappaB is critical for Schwann cell myelination. *Nat. Neurosci.* **14**, 437–441.
 41. Duman M., Vaquié A., Nocera G., Heller M., Stumpe M., Siva Sankar D., Dengjel J., Meijer D., Yamaguchi T., Matthias P., Zeis T., Schaeren-Wiemers N., Hayoz A., Ruff S., Jacob C. 2020. EEF1A1 deacetylation enables transcriptional activation of remyelination. *Nat. Commun.* **11** (1), 3420.
 42. He X.T., Hu X.F., Zhu C., Zhou K.X., Zhao W.J., Zhang C., Han X., Wu C.L., Wei Y.Y., Wang W., Deng J.P., Chen F.M., Gu Z.X., Dong Y.L. 2020. Suppression of histone deacetylases by SAHA relieves bone cancer pain in rats via inhibiting activation of glial cells in spinal dorsal horn and dorsal root ganglia. *J. Neuroinflammation.* **17** (1), 125.
 43. Schmitt H.M., Fehrman R.L., Maes M.E., Yang H., Guo L.W., Schlamp C.L., Pelzel H.R., Nickells R.W. 2021. Increased susceptibility and intrinsic apoptotic signaling in neurons by induced HDAC3 expression. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **62** (10), 14.
 44. Schmitt H.M., Grosser J.A., Schlamp C.L., Nickells R.W. 2020. Targeting HDAC3 in the DBA/2J spontaneous mouse model of glaucoma. *Exp. Eye Res.* **200**, 108244.
 45. Hervera A., Zhou L., Palmisano I., McLachlan E., Kong G., Hutson T.H., Danzi M. C., Lemmon V.P., Bixby J.L., Matamoros-Angles A., Forsberg K., De Virgiliis F., Matheos D.P., Kwapis J., Wood M.A., Puttagunta R., Del Río J.A., Di Giovanni, S. 2019. PP4-dependent HDAC3 dephosphorylation discriminates between axonal regeneration and regenerative failure. *EMBO J.* **38** (13), e101032.
 46. Zaidi S.A.H., Guzman W., Singh S., Mehrotra S., Husain S. 2020. Changes in class I and IIb HDACs by δ -opioid in chronic rat glaucoma model. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **61** (14), 4.
 47. Lebrun-Julien F., Suter U. 2015. Combined HDAC1 and HDAC2 depletion promotes retinal ganglion cell survival after injury through reduction of p53 target gene expression. *ASN Neuro.* **7** (3), 1759091415593066.
 48. Pelzel H.R., Schlamp C.L., Nickells R. W. 2010. Histone H4 deacetylation plays a critical role in early gene silencing during neuronal apoptosis. *BMC Neurosci.* **11**, 62.
 49. Schlüter A., Aksan B., Fioravanti R., Valente S., Mai A., Mauceri D. 2019. Histone deacetylases contribute to excitotoxicity-triggered degeneration of retinal ganglion cells in vivo. *Mol. Neurobiol.* **56** (12), 8018–8034.
 50. Demyanenko S., Dzreyan V., Uzdensky A. 2019. Axotomy-induced changes of the protein profile in the crayfish ventral cord ganglia. *Mol. Neurosci.* **68** (4), 667–678.
 51. Simões-Pires C., Zwick V., Nurisso A., Schenker E., Carrupt P. A., Cuendet M. 2013. HDAC6 as a target for neurodegenerative diseases: What makes it different from the other HDACs? *Mol. Neurodegener.* **8**, 7.
 52. d'Ydewalle C., Bogaert E., Van Den Bosch L. 2012. HDAC6 at the intersection of neuroprotection and neurodegeneration. *Traffic.* **13** (6), 771–779.
 53. Yuan H., Li H., Yu P., Fan Q., Zhang X., Huang W., Shen J., Cui Y., Zhou W. 2018. Involvement of HDAC6 in ischaemia and reperfusion-induced rat retinal injury. *BMC Ophthalmol.* **18** (1), 300.
 54. Cho Y., Sloutsky R., Naegle K.M., Cavalli V. 2015. Injury-induced HDAC5 nuclear export is essential for axon regeneration. *Cell.* **161** (3), 894–908.
 55. She D.T., Jo D.G., Arumugam T.V. 2017. Emerging roles of sirtuins in ischemic stroke. *Transl. Stroke Res.* <https://doi.org/10.1007/s12975-017-0544-4>
 56. Ng F., Wijaya L., Tang B.L. 2015. SIRT1 in the brain-connections with aging-associated disorders and lifespan. *Front. Cell Neurosci.* **9**, 64.
 57. Hernández-Jiménez M., Hurtado O., Cuartero M.I., Ballesteros I., Moraga A., Pradillo J.M., McBurney M.W., Lizasoain I., Moro M.A. 2013. Silent information regulator 1 protects the brain against cerebral ischemic damage. *Stroke.* **44** (8), 2333–2337.
 58. Hattori Y., Okamoto Y., Nagatsuka K., Takahashi R., Kalaria R.N., Kinoshita M., Ihara M. 2015. SIRT1 attenuates severe ischemic damage by preserving cerebral blood flow. *Neuroreport.* **26** (3), 113–117.
 59. Li Z., Pang L., Fang F., Zhang G., Zhang J., Xie M., Wang L. 2012. Resveratrol attenuates brain damage in a rat model of focal cerebral ischemia via up-regulation of hippocampal Bcl-2. *Brain Res.* **1450**, 116–124.
 60. Nie H., Hong Y., Lu X., Zhang J., Chen H., Li Y., Ma Y., Ying W. 2014. SIRT2 mediates oxidative stress-induced apoptosis of differentiated PC12 cells. *Neuroreport.* **25** (11), 838–842.
 61. Krey L., Lühder F., Kusch K., Czech-Zechmeister B., Könncke B., Fleming Outeiro T., Trendelenburg G. 2015. Knockout of silent information regulator 2 SIRT2 preserves neurological function after experimental stroke in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **35** (12), 2080–2088.
 62. Joshi P., Greco T.M., Guise A.J., Luo Y., Yu, F., Nesvizhskii A.I., Cristea I.M. 2013. The functional inter-

- actome landscape of the human histone deacetylase family. *Mol. Syst. Biol.* **9**, 672.
63. Dzreyan V., Rodkin S., Nikul V., Pitinova M., Uzdensky A. 2021. The expression of E2F1, p53, and caspase 3 in the rat dorsal root ganglia after sciatic nerve transection. *J. Mol. Neurosci.* **71** (4), 826–835.
 64. Демьяненко С.В., Дзреян В.А., Узденский А.Б. 2022. Эпигенетические механизмы повреждения и защиты клеток центральной и периферической нервных систем. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета. 179 с.
 65. Rodkin S., Khaitin A., Pitinova M., Dzreyan V., Guzenko V., Rudkovskii M., Sharifulina S., Uzdensky A. 2020. The localization of p53 in the crayfish mechanoreceptor neurons and its role in axotomy-induced death of satellite glial cells remote from the axon transection site. *J. Mol. Neurosci.* **70** (4), 532–541.
 66. Kim S.C., Sprung R., Chen Y., Xu Y., Ball H., Pei J., Cheng T., Kho Y., Xiao H., Xiao L., Grishin N.V., White M., Yang X. J., Zhao Y. 2006. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Mol. Cell.* **23** (4), 607–618.
 67. Uzdensky A. 2020. Multifunctional proteins. *Biophys. J.* **65**, 390–403.
 68. Родькин С.В., Дзреян В.А. Демьяненко С.В., Узденский А.Б. 2021. Роль p53-зависимых сигнальных путей в выживании и гибели нейронов и глиальных клеток при повреждении периферической нервной системы. *Биол. мембраны.* **38** (6), 402–417.
 69. Nijboer C.H., Heijnen C.J., van der Kooij M.A., Zijlstra J., van Velthoven C.T., Culmsee C., van Bel F., Hagberg H., Kavelaars A. 2011. Targeting the p53 pathway to protect the neonatal ischemic brain. *Ann. Neurol.* **70** (2), 255–264.
 70. Xie B., Gao X., Huang Y., Zhang Y., Zhu S. 2021. Remote ischemic postconditioning inhibits hippocampal neuronal apoptosis and mitophagy after cardiopulmonary resuscitation in rats. *Shock.* **55** (1), 74–82.
 71. Endo H., Kamada H., Nito C., Nishi T., Chan P.H. 2006. Mitochondrial translocation of p53 mediates release of cytochrome c and hippocampal CA1 neuronal death after transient global cerebral ischemia in rats. *J. Neurosci.* **26** (30), 7974–7983.
 72. Gu W., Roeder R.G. 1997. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell.* **90** (4), 595–606.
 73. Eid M., Dzreyan V., Demyanenko S. 2022. Sirtuins 1 and 2 in the acute period after photothrombotic stroke: Expression, localization and involvement in apoptosis. *Front. Physiol.* **13**, 782684.
 74. Uo T., Veenstra T.D., Morrison R.S. 2009. Histone deacetylase inhibitors prevent p53-dependent and p53-independent Bax-mediated neuronal apoptosis through two distinct mechanisms. *J. Neurosci.* **29** (9), 2824–2832.
 75. Brochier C., Dennis G., Riviaccio M.A., McLaughlin K., Coppola G., Ratan R.R., Langley B. 2013. Specific acetylation of p53 by HDAC inhibition prevents DNA damage-induced apoptosis in neurons. *J. Neurosci.* **33** (20), 8621–8632.
 76. Di Giovanni S., Knights C.D., Rao M., Yakovlev A., Beers J., Catania J., Avantaggiati M.L., Faden A.I. 2006. The tumor suppressor protein p53 is required for neurite outgrowth and axon regeneration. *EMBO J.* **25** (17), 4084–4096.
 77. Hasegawa K., Yoshikawa K. 2008. Necdin regulates p53 acetylation via Sirtuin1 to modulate DNA damage response in cortical neurons. *J. Neurosci.* **28** (35), 8772–8784.
 78. Gaub P., Tedeschi A., Puttagunta R., Nguyen T., Schmandke A., Di Giovanni S. 2010. HDAC inhibition promotes neuronal outgrowth and counteracts growth cone collapse through CBP/p300 and P/CAF-dependent p53 acetylation. *Cell Death. Differ.* **17** (9), 1392–1408.
 79. Iida S., Mashimo T., Kurosawa T., Hojo H., Muta H., Goto Y., Fukunishi Y., Nakamura H., Higo J. 2016. Variation of free-energy landscape of the p53 C-terminal domain induced by acetylation: Enhanced conformational sampling. *J. Comput. Chem.* **37** (31), 2687–2700.
 80. Knights C.D., Catania J., Di Giovanni S., Muratoglu S., Perez, R., Swartzbeck A., Quong A.A., Zhang X., Beerman T., Pestell R.G., Avantaggiati M.L. 2006. Distinct p53 acetylation cassettes differentially influence gene-expression patterns and cell fate. *J. Cell Biol.* **173** (4), 533–544.
 81. Tedeschi A., Nguyen T., Puttagunta R., Gaub P., Di Giovanni S. 2009. A p53-CBP/p300 transcription module is required for GAP-43 expression, axon outgrowth, and regeneration. *Cell Death Differ.* **16** (4), 543–554.
 82. Wilson A.M., Morquette B., Abdouh M., Unsain N., Barker P.A., Feinstein E., Di Polo A. 2013. ASPP1/2 regulate p53-dependent death of retinal ganglion cells through PUMA and Fas/CD95 activation in vivo. *J. Neurosci.* **33**, 2205–2216.
 83. Meng P., Ghosh R. 2014. Transcription addiction: Can we garner the Yin and Yang functions of E2F1 for cancer therapy? *Cell Death Dis.* **5** (8), e1360.
 84. Folch J., Junyent F., Verdager E., Auladell C., Pizarro J.G., Beas-Zarate C., Pallàs M., Camins A. 2012. Role of cell cycle re-entry in neurons: a common apoptotic mechanism of neuronal cell death. *Neurotox. Res.* **22** (3), 195–207.
 85. Bretones G., Delgado M.D., León J. 2015. Myc and cell cycle control. *Biochim. Biophys. Acta.* **1849** (5), 506–516.
 86. Camins A., Verdager E., Folch J., Beas-Zarate C., Canudas A.M., Pallàs M. 2007. Inhibition of ataxia telangiectasia-p53-E2F-1 pathway in neurons as a target for the prevention of neuronal apoptosis. *Curr. Drug Metab.* **8** (7), 709–715.
 87. Dzreyan V., Eid M., Rodkin S., Pitinova M., Demyanenko S. 2022. E2F1 Expression and apoptosis initiation in crayfish and rat peripheral neurons and glial cells after axonal injury. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (8), 4451.
 88. Ma L., Yu H.J., Gan S.W., Gong R., Mou K.J., Xue J., Sun S.Q. 2017. p53-Mediated oligodendrocyte apoptosis initiates demyelination after compressed spinal cord injury by enhancing ER-mitochondria interaction and E2F1 expression. *Neurosci. Lett.* **644**, 55–61.

89. Raimundo N., Song L., Shutt T.E., McKay S.E., Cotney J., Guan M.X., Gilliland T. C., Hohuan D., Santos-Sacchi J., Shadel G.S. 2012. Mitochondrial stress engages E2F1 apoptotic signaling to cause deafness. *Cell*. **148** (4), 716–726.
90. Inoue K., Fry E. A., Frazier D.P. 2016. Transcription factors that interact with p53 and Mdm2. *Int. J. Cancer*. **138** (7), 1577–1585.
91. Fogal V., Hsieh J.K., Royer C., Zhong S., Lu X. 2005. Cell cycle-dependent nuclear retention of p53 by E2F1 requires phosphorylation of p53 at Ser315. *EMBO J.* **24** (15), 2768–2782.
92. Martínez-Balbás M.A., Bauer U.M., Nielsen S.J., Brehm A., Kouzarides T. 2000. Regulation of E2F1 activity by acetylation. *EMBO J.* **19** (4), 662–671.
93. Boutillier A.L., Trinh E., Loeffler J.P. 2003. Selective E2F-dependent gene transcription is controlled by histone deacetylase activity during neuronal apoptosis. *J. Neurochem.* **84** (4), 814–828.
94. Tariot P.N., Schneider L.S., Cummings J., Thomas R.G., Raman R., Jakimovich L.J., Loy R., Bartocci B., Fleisher A., Ismail M.S., Porsteinsson A., Weiner M., Jack C.R. Jr., Thal L., Aisen P.S. 2011. Chronic divalproex sodium to attenuate agitation and clinical progression of Alzheimer disease. *Arch. Gen. Psychiatry*. **68** (8), 853–861.
95. Piepers S., Veldink J.H., de Jong S.W., van der Tweel I., van der Pol W.L., Uijendaal E.V., Schelhaas H.J., Scheffer H., de Visser M., de Jong J.M., Wokke J.H., Groeneveld G.J., van den Berg L.H. 2009. Randomized sequential trial of valproic acid in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.* **66** (2), 227–234.
96. Ho T.C.S., Chan A.H.Y., Ganesan A. 2020. Thirty years of HDAC inhibitors: 2020 insight and hindsight. *J. Med. Chem.* **63** (21), 12460–12484.
97. Wang C., Zheng C., Wang H., Zhang L., Liu Z., Xu P. 2022. The state of the art of PROTAC technologies for drug discovery. *Eur. J. Med. Chem.* **5** (235), 114290.
98. Kumar D., Hassan M.I. 2022. Targeted protein degraders march towards the clinic for neurodegenerative diseases. *Ageing Res. Rev.* **1** (78), 101616.
99. Yang K., Zhao Y., Nie X., Wu H., Wang B., Almodovar-Rivera C.M., Xie H., Tang W. 2020. A cell-based target engagement assay for the identification of cereblon E3 ubiquitin ligase ligands and their application in HDAC6 degraders. *Cell Chem. Biol.* **27** (7), 866–876.
100. Cao Z., Gu Z., Lin S., Chen D., Wang J., Zhao Y., Li Y., Liu T., Li Y., Wang Y., Lin H., He B. 2021. Attenuation of NLRP3 inflammasome activation by indirubin-derived PROTAC targeting HDAC6. *ACS Chem. Biol.* **16** (12), 2746–2751.
101. Hong J.Y., Jing H., Price I.R., Cao J., Bai J.J., Lin H. 2020. Simultaneous inhibition of SIRT2 deacetylase and defatty-acylase activities via a PROTAC strategy. *ACS Med. Chem. Lett.* **11** (11), 2305–2311.
102. Schiedel M., Lehotzky A., Szunyogh S., Oláh J., Hammelmann S., Wössner N., Robaa D., Einsle O., Sippl W., Ovádi J., Jung M. 2020. HaloTag-targeted sirtuin-rearranging ligand (SirReal) for the development of proteolysis-targeting chimeras (PROTACs) against the lysine deacetylase sirtuin 2 (Sirt2). *Chembiotech.* **21** (23), 3371–3376.

The Role of Post-Translational Protein Acetylation and Deacetylation in the Apoptosis of Neurons of the Peripheral Nervous System

V. A. Dzreyan¹, *, S. V. Demyanenko¹

¹Laboratory of Molecular Neurobiology, Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090 Russia

*e-mail: dzreyan2016@mail.ru

Neurotrauma is among the main causes of human disability and mortality. However, the mechanisms that mediate the survival and death of cells in the peripheral nervous system are still not fully understood. The transcription factors p53 and E2F1 are the master regulators of basic cellular functions, including DNA repair, cell cycle, metabolism, and apoptosis. Overexpression of p53 and E2F1, shown in a number of experimental models of peripheral nerve injury, suggests an important role of these proteins in the pathogenesis of neurotrauma. This review discusses the epigenetic mechanisms of p53 and E2F1 activation and regulation, which may contribute to the survival or death of neurons and glial cells after traumatic injury. Prospects for further studies of the mechanisms of regulation of the p53 and E2F1 proteins, including those involving histone deacetylases, for the development of neuroprotectors are considered.

Keywords: acetylation, histone deacetylases, axotomy, p53, E2F1, apoptosis